(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202291799 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.01.31

(22) Дата подачи заявки
2020.12.22

(51) Int. Cl. ***C07K 16/28*** (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ АСТМЫ ПОСРЕДСТВОМ ВВЕДЕНИЯ АНТАГОНИСТА IL-33 И/ИЛИ АНТАГОНИСТА IL-4R

(31) **62/952,996; 62/964,970**
(32) **2019.12.23; 2020.01.23**
(33) **US**
(86) **PCT/US2020/066559**
(87) **WO 2021/133776 2021.07.01**

(71) Заявитель:
САНОФИ БАЙОТЕКНОЛОДЖИ (FR); РИДЖЕНЕРОН ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Гулауик Элен (FR), Аддад Эль-Бдауи, Хэмон Сара, Харел Сайвен, Каллиолиас Георгиос, Радди Марселла (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(57) Предусмотрены способы лечения или предупреждения аллергической астмы и ассоциированных с ней состояний у субъекта. Определенные способы, раскрытые в данном документе, включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтической композиции, содержащей антагонист интерлейкина-33 (IL-33), такой как антитело к IL-33. Другие способы, раскрытые в данном документе, включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтической композиции, содержащей антагонист интерлейкина-4R (IL-4R), такой как антитело к IL-4R. Еще другие способы, раскрытые в данном документе, включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, первой терапевтической композиции, содержащей антагонист интерлейкина-33 (IL-33), такой как антитело к IL-33, и второй терапевтической композиции, содержащей антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R), такой как антитело к IL-4R. Предусмотрены сигнатурные гены, ассоциированные с аллергической астмой. Предусмотрены способы изменения (например, снижения) уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

202291799 A1

202291799 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-574634EA/061

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ИЛИ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ АСТМЫ ПОСРЕДСТВОМ ВВЕДЕНИЯ АНТАГОНИСТА IL-33 И/ИЛИ АНТАГОНИСТА IL-4R

РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Данная заявка испрашивает приоритет по предварительной заявке на патент США под регистрационным № 62/952996, поданной 23 декабря 2019 года, и № 62/964970, поданной 23 января 2020 года. Полное раскрытие каждой из данных заявок настоящим включено в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0002] Настоящее изобретение относится к лечению и/или предупреждению аллергической астмы и связанных с ней состояний. В частности, настоящее изобретение относится к введению антагониста интерлейкина-33 (IL-33) для лечения или предупреждения аллергической астмы у пациента, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение также относится к введению антагониста интерлейкина-4 (IL-4R) для лечения или предупреждения аллергической астмы у пациента, нуждающегося в этом. Наконец, настоящее изобретение относится к введению антагониста IL-33 (IL-33) и антагониста рецептора интерлейкина-4 (IL-4R) для лечения или предупреждения аллергической астмы у пациента, нуждающегося в этом.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Астма представляет собой хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, характеризующееся гиперчувствительностью дыхательных путей, острым и хроническим бронхоспазмом, отеком и закупоркой дыхательных путей слизью. Считается, что воспалительный компонент астмы охватывает много типов клеток, в том числе тучные клетки, эозинофилы, Т-лимфоциты, нейтрофилы и эпителиальные клетки, а также их биологические продукты. У пациентов с астмой наиболее часто проявляются симптомы свистящего дыхания, одышки, кашля и сдавленности в груди. Для большинства пациентов с астмой для обеспечения продолжительного контроля применяются схемы терапии контролирующими препаратами и терапии бронходилататорами. Ингаляционные кортикостероиды (ICS) считаются "золотым стандартом" в контроле симптомов астмы, а ингаляционные бета-2-агонисты являются наиболее эффективными бронходилататорами, доступными в настоящее время.

[0004] Астма 2 типа с высоким содержанием TH2 представляет собой наиболее распространенный тип персистирующей астмы (Fahy (2015) Nat. Rev. Immunol. 15:57-65). Она включает перекрывающиеся фенотипы аллергической астмы (характеризующейся повышенной экспрессией специфического иммуноглобулина E (IgE) к аэроаллергенам) и эозинофильной астмы (характеризующейся эозинофилией крови и/или дыхательных путей/тканей) (Fahy, выше; Campo et al. (2013) J. Investig. Allergol. Clin. Immunol. 23:76-88; Wenzel (2012) Clin Exp Allergy 42:650-8).

[0005] Аллергическая астма представляет собой наиболее часто встречающийся тип астмы. Аллергическая сенсибилизация представляет собой значительный фактор риска развития и степени тяжести астмы у детей и взрослых (Gough et al. (2015) Pediatr. Allergy Immunol. 26:431- 437). Современные виды терапии аллергической астмы, направленные на устранение симптомов и продолжающийся воспалительный процесс заболевания, не влияют на лежащий в основе нарушенный иммунный ответ и, следовательно, сильно ограничены в контроле прогрессирования аллергической астмы (Dhami et al. (2017) Eur. J. Allergy Clin. Immunol. 72(12):1825-1848)).

[0006] В данной области существует необходимость в новых целенаправленно воздействующих средствах терапии для лечения и/или предупреждения астмы, например, аллергической астмы.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0007] В соответствии с одним аспектом предусмотрен способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для применения для лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом.

[0008] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают REGN3500.

[0009] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят внутривенно в дозе, составляющей 10 мг/кг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг или приблизительно

300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

[0010] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для применения для лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом.

[0011] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0012] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

[0013] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в неделю (q1w), один раз в две недели (q2w), один раз в три недели (q3w) или один раз в четыре недели (q4w). В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в две недели (q2w).

[0014] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят

подкожно с применением автоинъектора, иглы и шприца или устройства для доставки в виде шприца-ручки.

[0015] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту начальной дозы, составляющей приблизительно 600 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, и одной или нескольких последующих доз, составляющих приблизительно 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В другом аспекте начальная доза, составляющая приблизительно 600 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, и одна или несколько последующих доз, составляющих приблизительно 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, предусмотрены для применения для лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом.

[0016] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28.

[0017] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту первого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, и второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6

и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, и второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для применения для лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом.

[0018] В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают REGN3500.

[0019] В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0020] В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких последующих доз, составляющих приблизительно 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0021] В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в неделю (q1w), один раз в две недели (q2w), один раз в три недели (q3w) или один раз в четыре недели (q4w). В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в две недели (q2w).

[0022] В определенных иллюстративных вариантах осуществления второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент вводят подкожно с применением автоинъектора, иглы и шприца или устройства для доставки в виде шприца-ручки.

[0023] В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят внутривенно в дозе, составляющей 10 мг/кг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг или приблизительно 300 мг. В определенных иллюстративных вариантах осуществления первое антитело или или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

[0024] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту первого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в однократной дозе, составляющей 10 мг/кг, и второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей 600 мг, и одной или нескольких последующих дозах, составляющих приблизительно 300 мг. В одном аспекте первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в однократной дозе, составляющей 10 мг/кг, и второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей 600 мг, и одной

или нескольких последующих дозах, составляющих приблизительно 300 мг, предусмотрены для применения для лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом.

[0025] В определенных иллюстративных вариантах осуществления аллергическая астма представляет собой аллергическую астму легкой степени. В определенных иллюстративных вариантах осуществления аллергическая астма представляет собой персистирующую аллергическую астму легкой степени.

[0026] В определенных иллюстративных вариантах осуществления субъект характеризуется аллергией к аллергену клеща домашней пыли (HDM). В определенных иллюстративных вариантах осуществления субъект является некурящим. В определенных иллюстративных вариантах осуществления субъект является клинически стабильным, и для контроля симптомов астмы ему требуется применение ингаляционного β2-агониста короткого действия (SABA) по мере необходимости.

[0027] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается уровень потери контроля астмы (LOAC). В определенных иллюстративных вариантах осуществления симптом астмы выбран из группы, состоящей из кашля, свистящего дыхания, а также у субъекта снижается уровень применения ингаляционного β2-агониста короткого действия.

[0028] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта улучшаются один или несколько ассоциированных с астмой параметров. В определенных иллюстративных вариантах осуществления ассоциированный с астмой параметр выбран из группы, состоящей из объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV1), пиковой объемной скорости выдоха (PEF), форсированной жизненной емкости легких (FVC), форсированной объемной скорости выдоха (FEF) в интервале 25-75% и снижения частоты приема или дозы применяемого ингаляционного β2-агониста короткого действия у субъекта. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта улучшается параметр FEV1 до введения бронходилататора.

[0029] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни эозинофилов в крови.

[0030] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта улучшаются один или оба из показателя по опроснику по контролю астмы в версии из 5 пунктов (ACQ-5) и показателя по опроснику по оценке качества жизни у больных астмой со стандартизованными видами деятельности (AQLQ).

[0031] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается частота приема или доза применяемого SABA.

[0032] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается индуцированное BAC воспаление легких.

[0033] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается уровень цитокинов, связанных с воспалением 2 типа. В определенных иллюстративных вариантах осуществления цитокин, связанный с воспалением 2 типа,

выбран из группы, состоящей из IL-13 и IL-5. В определенных иллюстративных вариантах осуществления уровень цитокинов, связанных с воспалением 2 типа, измеряется посредством определения уровня мРНК одного или нескольких генов-медиаторов воспаления 2 типа, и при этом уровень мРНК снижается на по меньшей мере приблизительно 50%, 60%, 70%, 80% или 90%. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается уровень цитокина или хемокина, выбранного из группы, состоящей из фактора некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочного хемокина, регулируемого активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

[0034] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижается выраженность ранней ответной реакции на аллерген (EAR) или поздней ответной реакции на аллерген (LAR). В определенных иллюстративных вариантах осуществления параметр FEV1 улучшается у субъекта на по меньшей мере 20%, 30%, 40%, 50%, 60% или 70%. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни FeNO. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL13, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, IL-13, IL-5, PTGDS или RD3 в сыворотке крови.

[0035] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для применения для снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0036] В определенных иллюстративных вариантах осуществления цитокин представлен одним или обоими из IL-13 и IL-5. В определенных иллюстративных вариантах осуществления цитокин или хемокин выбраны из группы, состоящей из TNFα, TARC, PARC, CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

[0037] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или MMP12 в сыворотке крови. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови.

[0038] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0039] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

[0040] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0041] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52,

P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH. В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

[0042] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0043] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

[0044] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0045] В определенных иллюстративных вариантах осуществления сигнатурные гены, относящиеся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением

2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, GATA2, CCL26, FCER2, CACNG8, CLC, GATA1, LGALS12, SIGLEC8, GGT5, CCL17 и MMP10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, CCL26, FCER2, SIGLEC8, GGT5 и CCL17.

[0046] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0047] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

[0048] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0049] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, выбраны из группы, состоящей из IL1RL1, ADARB1, SIGLEC8, ASB2, VSTM1, SYNE1, CLC, PTPN7 и HDC.

[0050] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0051] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

[0052] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0053] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-4, IL-13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL-5 и IL-9.

[0054] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и

легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

[0055] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

[0056] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для применения для снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0057] В определенных иллюстративных вариантах осуществления цитокин представлен одним или обоими из IL-13 и IL-5.

[0058] В определенных иллюстративных вариантах осуществления цитокин или хемокин выбраны из группы, состоящей из TNFα, TARC, PARC, CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

[0059] В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или MMP12 в сыворотке крови. В определенных иллюстративных вариантах осуществления у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови.

[0060] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0061] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего

фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

[0062] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0063] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH. В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

[0064] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0065] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

[0066] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для применения для снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0067] В определенных иллюстративных вариантах осуществления сигнатурные гены, относящиеся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, GATA2, CCL26, FCER2, CACNG8, CLC, GATA1, LGALS12, SIGLEC8, GGT5, CCL17 и MMP10. В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, CCL26, FCER2, SIGLEC8, GGT5 и CCL17.

[0068] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0069] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

[0070] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0071] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, выбраны из группы, состоящей из IL1RL1, ADARB1, SIGLEC8, ASB2, VSTM1, SYNE1, CLC, PTPN7 и HDC.

[0072] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0073] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

[0074] В соответствии с другим аспектом предусмотрен способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26. В одном аспекте антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26, предусмотрены для снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма.

[0075] В определенных иллюстративных вариантах осуществления один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-4, IL-13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL-5 и IL-9.

[0076] В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28. В определенных иллюстративных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

[0077] В определенных иллюстративных вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0078] Вышеизложенные и другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут в большей степени понятны из следующего подробного описания иллюстративных вариантов осуществления во взаимосвязи с прилагаемыми графическими материалами. В файле настоящего патента содержится по меньшей мере один графический материал/фотография, выполненные в цвете. Копии настоящего патента с цветным(цветными) графическим(графическими)

материалом(материалами)/фотографией(фотографиями) будут представлены патентным ведомством по запросу и при оплате необходимого взноса.

[0079] На **фиг. 1** изображена диаграмма 8-недельного исследования, разработанного для оценки эффекта лечения в отношении воспаления дыхательных путей, индуцированного провокационной пробой с бронхиальным аллергеном (BAC). На графике изображены указанные далее мероприятия. Сбор индуцированной мокроты на исходном уровне (непосредственно перед BAC) и после BAC (через 8 и 24 часа после BAC), при скрининге (перед лечением) и на неделе 4 и неделе 8 после начала лечения. Индуцированное BAC изменение воспалительной сигнатуры в мокроте оценивают посредством сравнения сигнатуры в мокроте на исходном уровне и после BAC при скрининге (скрининговое изменение), на неделе 4 (изменение на неделе 4) и на неделе 8 (изменение на неделе 8) после начала лечения. Эффект лечения в отношении воспалительной сигнатуры в мокроте оценивают посредством определения разницы между индуцированным BAC скрининговым изменением и индуцированным BAC изменением на неделе 4 (изменением от скрининга до недели 4) и разницы между индуцированным BAC скрининговым изменением и индуцированным BAC изменением на неделе 8 (изменением от скрининга до недели 8).

[0080] На **фиг. 2** изображена диаграмма 1 части исследования. Пациентов, соответствующих критериям включения (в общей сложности не более 32), рандомизируют 1:1:1:1 для получения REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба или плацебо.

[0081] На **фиг. 3** изображена диаграмма 2 части исследования. Примерно 6 пациентов получают 500 мкг ингаляционного флутиказона пропионата (2 впрыскивания по 250 мкг) на дозу два раза в день в течение 4 дней (в общей сложности 8 доз), начиная с дня 1.

[0082] На **фиг. 4** изображена диаграмма механизма действия IL-33 в качестве инициатора и усилителя врожденного и приобретенного иммунитета. Как изображено на **фиг. 4**, IL-33 высвобождается после повреждения ткани.

[0083] На **фиг. 5** представлены данные, показывающие, что лечение с применением антитела к IL-33 снижает воспаление в модели хронического воспаления легких с использованием клеща домашней пыли (HDM). Данная фигура показывает, что лечение с применением антитела к IL-33 подавляет действие провоспалительных цитокинов и хемокинов. Представлены данные, показывающие уровни эозинофилов в легких и нейтрофилов в легких в модели с использованием HDM при проведении лечения антителом к IL-33 и без него. Представлена тепловая карта панели генов легочных цитокинов, показывающая уровни hIL-4, IL-5, IL-1b, TNFα, IFNg, GROa и MCP-1. Также представлены данные тестирования альвеолярного SMA.

[0084] На **фиг. 6** изображена диаграмма механизма действия антитела к IL33 в отношении снижения воспаления 1 типа и 2 типа. Как продемонстрировано на данной фигуре, IL-33 обуславливает персистирующее и усугубляющееся воспаление и

ремоделирование легких. Антитело к IL-33 снижает уровень нескольких компонентов хронического воспаления легких, обуславливаемого HDM.

[0085] На **фиг. 7** изображена схема исследования из примера 1, описанного в данном документе. На данной фигуре показаны стадии провокационной пробы с бронхиальным аллергеном у пациентов с астмой легкой степени. Субъекты получают лечение с применением плацебо, плацебо и REGN3500, дупилумаба и плацебо или дупилумаба и REGN3500. Эффект соответствующих видов лечения определяют посредством секвенирования РНК клеток мокроты после вдыхания пациентом гипертонического солевого раствора и откашливания мокроты.

[0086] На **фиг. 8** изображена экспрессия различных сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, перед провокационной пробой с аллергеном, через 8 часов после провокационной пробы с аллергеном и через 24 часа после провокационной пробы с аллергеном. Данные результаты показывают, что ведущие гены, индуцируемые провокационной пробой с бронхиальным аллергеном при скрининге, характеризуются повышением уровня таковых, связанных с воспалением 2 типа, и конкретные гены, представляющие интерес, включают без ограничения IL-4, IL-5, IL-13, IL-9, IL1RL1 (рецептор IL-33), Eot-3 (CCL26), TARC (CCL17) и FCER2. Указанный перечень был получен посредством сортировки по среднему относительному изменению в более чем 10 раз, FDR менее чем 0,05. Сигнал, получаемый при провокационной пробе с аллергеном, являлся воспроизводимым, однако его сила различалась между группами. Ведущие идентифицированные гены (перечисленные сверху вниз) включали MMP10, WNT5A, CO1B, CD1A, CCL1, CCL17, PPP1R14A, IL-9, IL-5, IL-13, FCER2, CCL26, K3AA1755, GGT5, SIGLEC8, LGALS12, GATA1, CLC, CACNG8, BC015656, AKX05132, FFAR3, CACH1, IL1RL1, HPH4, CC5AML, GATA2, TAL1, HDC, NTRX1, IL-4.

[0087] На **фиг. 9** изображены ведущие сигнатурные гены, относящиеся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, индуцируемые посредством провокационной пробы с аллергеном через 8 или 24 часа (значение FC превышает или равно 12 или значение p(скорректированное) превышает или равно 0,05) и подавляемые с помощью REGN3500. Данные результаты показывают, что REGN3500 подавляло воспалительные цитокины и хемокины, связанные с воспалением 2 типа, в том числе IL-5, IL-13, TARC и эотаксин-3. Другие гены, представляющие интерес, подавляемые с помощью REGN3500 и индуцируемые посредством провокационной пробы с бронхиальным аллергеном, включали CCL1, лиганд для CCR8, который привлекает активированные клетки типа Th2 и Treg, CCL26, FCER2, SIGLEC8 и CCL17.

[0088] На **фиг. 10** изображена генная сигнатура для эозинофилов, используемая для оценки эффектов лечения в отношении уровней эозинофилов в мокроте. Совокупность из 10 генов показывала высокую степень корреляции со значениями числа эозинофилов в мокроте как до, так и после провокационной пробы с аллергеном. Данный набор генов включает ADARB1, ASB2, CLC, GLOD5, HDC, IL1RL1, PTPN7, SIGLEC8, SYNE1 и VSTM1. Сигнатура мРНК улучшала статистические показатели для определения

величины эффекта лечения (флутиказон) по сравнению с % эозинофилов в мокроте. Гены не являлись исключительными для эозинофилов, например, SIGLEC8 (экспрессируемый в эозинофилах, базофилах и тучных клетках), HDC (экспрессируемый в тучных клетках) и VSTM1 (экспрессируемый в миелоидных клетках).

[0089] На **фиг. 11** изображены эффекты REGN3500 в отношении сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, в мокроте, демонстрирующие подавление сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами. На **фиг. 11** также показано, что REGN3500 не обладал эффектом в отношении сигнатурных генов, ассоциированных с нейтрофилами. Представлены данные для генов ADARB1, ASB2, CLC, HDC, IL1RL1, PTPN7, SIGLEC8, SYNE1 и VSTM1.

[0090] На **фиг. 12** показаны эффекты REGN3500 в отношении сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, в мокроте, демонстрирующие подавление сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа. На **фиг. 12** также показано, что сигнатурные гены, ассоциированные с воспалением 1 типа, не были индуцированы провокационной пробой с аллергеном. Представлены данные для IL4, IL13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL5 и IL9.

[0091] На **фиг. 13A-13B** изображены данные, показывающие механизм действия повышения уровней IL-33 в отношении обуславливания самовозобновляемой петли амплификации, которая примирует ткани в отношении обострений. **Фигуры 13A-13B** содержат данные, полученные для модели с использованием HDM. Повышение уровней IL-33 обуславливало самовозобновляемую петлю амплификации, которая примировала ткани в отношении обострений.

[0092] На **фиг. 14** изображены показатели для генной сигнатуры для эозинофилов между группами лечения. Группы включают таковые, которые получают плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированную терапию дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты до и после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Данные результаты показывают, что как дупилумаб, так и REGN3500 были способны снижать показатели для генной сигнатуры для эозинофилов после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Комбинированное лечение дупилумабом и REGN3500 представляло собой наиболее эффективное лечение в отношении снижения показателей генной сигнатуры для эозинофилов после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном.

[0093] На **фиг. 15** изображены показатели сигнатуры для воспаления 2 типа между группами лечения. Группы включают таковые, которые получают плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированную терапию дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты до и после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Данные результаты показывают более низкий уровень снижения показателей сигнатуры для воспаления 2 типа в группе лечения REGN3500 по сравнению с группой лечения флутиказоном.

[0094] На **фиг. 16** изображены сигнатурные гены, ассоциированные с

аллергической астмой, на которые влияет REGN3500 (через 8 и/или 24 часа). Представлены результаты при скрининге и при лечении, которое осуществлялось после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Тестируемые гены включали, сверху вниз, BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH.

[0095] На **фиг. 17** изображены ведущие сигнатурные гены, ассоциированные с аллергической астмой, индуцируемые посредством провокационной пробы с бронхиальным аллергеном через 24 часа и подавляемые с помощью REGN3500. Представлены результаты при скрининге и при лечении, которое осуществлялось после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Изображенные гены включают, сверху вниз, ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

[0096] Перед описанием настоящего изобретения необходимо понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными описанными способами и условиями экспериментов, поскольку такие способы и условия могут варьироваться. Также необходимо понимать, что терминология, используемая в данном документе, предназначена лишь для описания конкретных вариантов осуществления и не предполагает ограничительный характер, поскольку объем настоящего изобретения будет ограничиваться лишь прилагаемой формулой изобретения.

[0097] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют такое же значение, которое обычно понимается специалистом в данной области техники, к которой относится настоящее изобретение.

[0098] Используемый в данном документе термин "приблизительно", в случае его использования со ссылкой на конкретное описываемое числовое значение, означает, что значение может отличаться от описываемого значения на не более чем на 1%. Например, используемое в данном документе выражение "приблизительно 100" включает 99 и 101 и все значения между ними (например, 99,1, 99,2, 99,3, 99,4 и т. д.).

[0099] Используемые в данном документе выражения "лечить", "лечение" или им подобные означают облегчать симптомы, устранять причинность симптомов, либо на временной, либо на постоянной основе, или предупреждать или замедлять проявление симптомов указанного нарушения или состояния.

[00100] Хотя любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, можно использовать при реализации настоящего изобретения на практике, ниже описаны типичные способы и материалы. Все публикации,

упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

Способы снижения частоты обострений аллергической астмы

[00101] Настоящее изобретение включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист интерлейкина-33 (IL-33). Также предусмотрен антагонист интерлейкина-33 (IL-33) для применения для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение также включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R). Также предусмотрен антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R) для применения для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Способы, представленные в настоящем изобретении, дополнительно предусматривают введение нуждающемуся в этом субъекту первой терапевтической композиции, содержащей антагонист интерлейкина-33 (IL-33), и второй терапевтической композиции, содержащей антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R). Также предусмотрен антагонист интерлейкина-33 (IL-33) и антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R) для применения для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Согласно определенным вариантам осуществления антагонист IL-33 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-33. В данном документе описаны иллюстративные антитела к IL-33, которые можно применять в контексте способов и вариантов применения, предусмотренных в настоящем изобретении. Согласно определенным вариантам осуществления антагонист IL-4R представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-4R. В данном документе описаны иллюстративные антитела к IL-4R, которые можно применять в контексте способов и вариантов применения, предусмотренных в настоящем изобретении.

[00102] Используемое в данном документе выражение "обострение астмы" означает повышение тяжести и/или частоты возникновения и/или продолжительности одного или нескольких симптомов или проявлений астмы. Выражение "обострение астмы" также включает любое ухудшение состояния дыхательной системы субъекта, которое требует терапевтического вмешательства или подлежит лечению посредством терапевтического вмешательства по причине астмы (такого как, например, лечение стероидами, лечение ингаляционными кортикостероидами, госпитализация и т. д.). Существует два типа явлений обострения астмы: явление потери контроля астмы (LOAC) и явление тяжелого обострения.

[00103] Согласно определенным вариантам осуществления явление потери контроля астмы (LOAC) определяют как одно или несколько из следующего: (a) снижение утреннего PEF на 30% или больше от исходного уровня в течение 2 последних дней; (b) 6

или более дополнительных впрыскиваний облегчающего дыхание лекарственного средства сальбутамола/альбутерола или левосальбутамола/левальбутерола в течение 24-часового периода (по сравнению с исходным уровнем) в течение 2 последовательных дней; (c) увеличение дозы приема ICS, превышающее или равное 4-кратной последней назначенной дозе ICS (или ≥ 50% от назначенной дозы ICS в момент V2, если завершена отмена фоновой терапии); (d) применение системного стероида (перорального и/или парентерального) для лечения; или (e) госпитализация или визит в отделение неотложной помощи из-за астмы.

[00104] В определенных случаях обострение астмы можно обозначить как "явление тяжелого обострения астмы". Явление тяжелого обострения астмы означает случай, требующий незамедлительного вмешательства в форме лечения либо системными кортикостероидами, либо ингаляционными кортикостероидами в дозе, в четыре или больше раз превышающей дозу, принимаемую до этого случая. Согласно определенным вариантам осуществления явление тяжелого обострения астмы определяют как ухудшение астмы, требующее следующего: применения системных кортикостероидов в течение 3 дней или больше или госпитализации или визита в отделение неотложной помощи из-за астмы, требующей применения системных кортикостероидов. Таким образом, общее выражение "обострение астмы" включает и охватывает более специфическую подкатегорию "тяжелых обострений астмы". Соответственно, включены способы снижения частоты возникновения тяжелых обострений астмы у нуждающегося в этом пациента.

[00105] "Снижение частоты" обострения астмы означает, что у субъекта, который получал фармацевтическую композицию, содержащую антагонист IL-4R, наблюдается меньшее количество обострений аллергической астмы (т. е. количество, которое меньше на по меньшей мере одно обострение астмы) после лечения, чем до лечения, или не наблюдаются обострения аллергической астмы в течение по меньшей мере 4 недель (например, 4, 6, 8, 12, 14 или больше недель) после начала лечения фармацевтической композицией. "Снижение частоты" обострения астмы альтернативно означает, что после введения фармацевтической композиции вероятность того, что у субъекта возникнет обострение астмы снижается на по меньшей мере 10% (например, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50% или больше) по сравнению с субъектом, который не получал фармацевтической композиции.

[00106] Настоящее изобретение включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, а также введение субъекту одной или нескольких поддерживающих доз ингаляционного кортикостероида (ICS) и/или одной или нескольких поддерживающих доз второго контролирующего лекарственного препарата, например, бета-агониста длительного действия (LABA) или антагониста лейкотриеновых рецепторов (LTA). Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист рецептора интерлейкина-4 (IL-4R), для применения в комбинации

с одной или несколькими поддерживающими дозами ингаляционного кортикостероида (ICS) и/или одной или несколькими поддерживающими дозами второго контролирующего лекарственного препарата, например, бета-агониста длительного действия (LABA) или антагониста лейкотриеновых рецепторов (LTA), для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, а также введение субъекту одной или нескольких поддерживающих доз ингаляционного кортикостероида (ICS) и/или одной или нескольких поддерживающих доз второго контролирующего лекарственного препарата, например, бета-агониста длительного действия (LABA) или антагониста лейкотриеновых рецепторов (LTA). Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист интерлейкина-33 (IL-33) для применения в комбинации с одной или несколькими поддерживающими дозами ингаляционного кортикостероида (ICS) и/или одной или несколькими поддерживающими дозами второго контролирующего лекарственного препарата, например, бета-агониста длительного действия (LABA) или антагониста лейкотриеновых рецепторов (LTA), для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Подходящие ICS включают без ограничения флутиказон (например, флутиказона пропионат, например, Flovent™), будесонид, мометазон (например, мометазона фуроат, например, Asmanex™), флунизолид (например, Aerobid™), дексаметазона ацетат/фенобарбитал/теофиллин (например, Azmacort™), беклометазона дипропионат HFA (Qvar™) и т. п. Подходящие LABA включают без ограничения сальметерол (например, Serevent™), формотерол (например, Foradil™) и т. п. Подходящие LTA включают без ограничения монтелукаст (например, Singulaire™), зафирлукаст (например, Accolate™) и т. п.

[00107] Настоящее изобретение включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей один или оба из антагониста IL-4R и антагониста IL-33, а также введение субъекту одного или нескольких лекарственных препаратов, облегчающих дыхание, для устранения или снижения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с астмой. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая один или оба из антагониста IL-4R и антагониста IL-33, для применения в комбинации с одной или несколькими поддерживающими дозами ингаляционного кортикостероида (ICS) и/или одной или несколькими поддерживающими дозами второго контролирующего лекарственного препарата, например, бета-агониста длительного действия (LABA) или антагониста лейкотриеновых рецепторов (LTA), для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение включает способы снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, предусматривающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей один или оба из антагониста IL-4R и

антагониста IL-33, а также введение субъекту одного или нескольких лекарственных препаратов, облегчающих дыхание, для устранения или снижения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с астмой. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая один или оба из антагониста IL-4R и антагониста IL-33, для применения в комбинации с одним или несколькими лекарственными препаратами, облегчающими дыхание, для устранения или снижения одного или нескольких симптомов, ассоциированных с астмой, для снижения частоты обострений аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Подходящие лекарственные препараты, облегчающие дыхание, включают без ограничения длительнодействующие агонисты бета$_2$-адренергических рецепторов, такие как, например, альбутерол (например, сальбутамол, например, Proventil™, Ventolin™, Xopenex™ и т. п.), пирбутерол (например, Maxair™), метапротеренол (например, Alupent™) и т. п.

Способы улучшения ассоциированных с астмой параметров

[00108] Настоящее изобретение также включает способы улучшения одного или нескольких ассоциированных с астмой параметров у нуждающегося в этом субъекта, где способы предусматривают введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-33, для применения в улучшении одного или нескольких параметров, ассоциированных с астмой, у субъекта, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение дополнительно включает способы улучшения одного или нескольких ассоциированных с астмой параметров у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способы включают введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-4R, для применения в улучшении одного или нескольких параметров, ассоциированных с астмой, у субъекта, нуждающегося в этом. Настоящее изобретение также включает способы улучшения одного или нескольких связанных с астмой параметров у нуждающегося в этом субъекта, где способы предусматривают введение субъекту первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, и второй фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R. Также предусмотрена первая фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-33, и вторая фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-4R, для применения в улучшении одного или нескольких параметров, ассоциированных с астмой, у субъекта, нуждающегося в этом. Снижение частоты обострения астмы (как описано выше) может быть взаимосвязано с улучшением одного или нескольких ассоциированных с астмой параметров; однако такая взаимосвязь необязательно наблюдается во всех случаях.

[00109] Примеры "ассоциированных с астмой параметров" включают (1) относительное процентное изменение от исходного уровня (например, на неделе 12) объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV_1); (2) относительное процентное изменение от исходного уровня (например, на неделе 12), измеренное по форсированной объемной скорости выдоха в интервале 25-75% форсированной жизненной емкости

легких (FEF25-75); (3) частоту в годовом исчислении явлений потери контроля астмы на протяжении периода лечения; (4) частоту в годовом исчислении явлений тяжелого обострения на протяжении периода лечения; (5) время до наступления явлений потери контроля астмы на протяжении периода лечения; (6) время до наступления явлений тяжелого обострения на протяжении периода исследования; (7) время до наступления явлений потери контроля астмы на протяжении всего периода исследования; (8) время до наступления явлений тяжелого обострения на протяжении всего периода исследования; (9) использование медицинских услуг; (10) изменение от исходного уровня до недели 12 i) показателей оценки симптомов астмы в утреннее и вечернее время, ii) показателя ACQ-5, iii) показателя AQLQ, iv) PEF в утреннее и вечернее время, v) числа ингаляций/день сальбутамола/альбутерола или левосальбутамола/левальбутерола для облегчения симптомов, vi) ночных пробуждений; (11) изменение от исходного уровня до недели 12 и недели 24 i) показателя теста для оценки исхода болезней носа и придаточных пазух носа из 22 пунктов (SNOT-22), ii) показателя по госпитальной шкале тревоги и депрессии (HADS), iii) показателя по опроснику EuroQual (EQ-5D-3L или EQ-5D-5L). "Улучшение ассоциированного с астмой параметра" означает повышение от исходного уровня одного или нескольких из FEV_1, PEF до полудня или PEF после полудня и/или снижение от исходного уровня одного или нескольких из суточного применения альбутерола/левальбутерола, показателя ACQ5, среднего числа пробуждений в ночное время или показателя SNOT-22. Используемый в данном документе термин "исходный уровень" в отношении ассоциированного с астмой параметра означает числовое значение ассоциированного с астмой параметра для пациента до или во время введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, числовое значение ассоциированного с астмой параметра для пациента до или во время введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, или числовое значение ассоциированного с астмой параметра для пациента до или во время введения субъекту первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, и второй фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R.

[00110] Чтобы определить, "улучшился ли" ассоциированный с астмой параметр, параметр измеряют количественно на исходном уровне и во временной точке после введения фармацевтической композиции, описанной в данном документе. Например, ассоциированный с астмой параметр можно измерять в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 14 или на неделе 3, неделе 4, неделе 5, неделе 6, неделе 7, неделе 8, неделе 9, неделе 10, неделе 11, неделе 12, неделе 13, неделе 14, неделе 15, неделе 16, неделе 17, неделе 18, неделе 19, неделе 20, неделе 21, неделе 22, неделе 23, неделе 24 или в течение более длительного периода после первичного лечения фармацевтической композицией. Разницу между величиной параметра в определенной временной точке после начала лечения и величиной параметра на исходном уровне используют для установления того, произошло ли "улучшение"

ассоциированного с астмой параметра (например, повышение или снижение в зависимости от ситуации, в зависимости от конкретного измеряемого параметра).

[00111] Выражение "ассоциированные с астмой параметры" также включает измененный (т. е. повышенный или сниженный) уровень экспрессии одного или нескольких (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или больше) "сигнатурных генов", ассоциированных с аллергической астмой, по сравнению с их экспрессией на исходном уровне. Используемый в данном документе термин "исходный уровень" в отношении сигнатурного гена означает числовое значение уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов для пациента до или во время введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, числовое значение уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов для пациента до или во время введения субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, или числовое значение уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов для пациента до или во время введения субъекту первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, и второй фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R. В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления отбор пациента для лечения с применением фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, или первой фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, и второй фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, основан на повышении или снижении уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов.

[00112] В определенных иллюстративных вариантах осуществления экспрессия одного или нескольких сигнатурных генов является сниженной по сравнению с уровнями экспрессии на исходном уровне, например, экспрессия снижена до уровня, который составляет приблизительно 99%, приблизительно 98%, приблизительно 97%, приблизительно 96%, приблизительно 95%, приблизительно 94%, приблизительно 93%, приблизительно 92%, приблизительно 91%, приблизительно 90%, приблизительно 85%, приблизительно 80%, приблизительно 75%, приблизительно 70%, приблизительно 65%, приблизительно 60%, приблизительно 55%, приблизительно 50%, приблизительно 45%, приблизительно 40%, приблизительно 35%, приблизительно 30%, приблизительно 25%, приблизительно 20%, приблизительно 15%, приблизительно 10% или приблизительно 5% от уровня экспрессии на исходном уровне или находится в любых диапазонах между данными числовыми значениями.

[00113] В определенных иллюстративных вариантах осуществления экспрессия одного или нескольких сигнатурных генов является повышенной по сравнению с уровнями экспрессии на исходном уровне, например, экспрессия снижена до уровня, который составляет приблизительно 105%, приблизительно 110%, приблизительно 120%, приблизительно 125%, приблизительно 130%, приблизительно 135%, приблизительно 140%, приблизительно 145%, приблизительно 150%, приблизительно 175%, приблизительно 200%, приблизительно 225%, приблизительно 250%, приблизительно

275%, приблизительно 300%, приблизительно 400% или приблизительно 500% или больше от уровня экспрессии на исходном уровне или находится в любых диапазонах между данными числовыми значениями.

[00114] Подходящие сигнатурные гены включают сигнатурные гены, ассоциированные с аллергической астмой, которые включают без ограничения сигнатурные гены, ассоциированные с воспалением 2 типа, сигнатурные гены, относящиеся к цитокинам, сигнатурные гены, относящиеся к хемокинам, сигнатурные гены, ассоциированные с эозинофилами, и т. п.

[00115] Иллюстративные сигнатурные гены, ассоциированные с аллергической астмой, изображены на **фиг. 16** и **фиг. 17** и включают без ограничения BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769, RHOH, ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

[00116] Иллюстративные сигнатурные гены, ассоциированные с воспалением 2 типа, изображены на **фиг. 8** и **фиг. 12** и включают без ограничения IL-4, IL-5, IL-13, IL-9, IL1RL1 (рецептор IL-33), Eot-3 (CCL26), TARC (CCL17), FCER2, MMP10, WNT5A, CO1B, CD1A, CCL1, CCL17, PPP1R14A, IL-9, IL-5, IL-13, FCER2, CCL26, K3AA1755, GGT5, SIGLEC8, LGALS12, GATA1, CLC, CACNG8, BC015656, AKX05132, FFAR3, CACH1, IL1RL1, HPH4, CC5AML, GATA2, TAL1, HDC, NTRX1, IL-4, IL4, IL13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL5 и IL9.

[00117] Иллюстративные сигнатурные гены, относящиеся к цитокинам, и сигнатурные гены, относящиеся к хемокинам, изображены на **фиг. 9** и включают без ограничения IL-5, IL-13, TARC, эотаксин-3, CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8 и CCL17.

[00118] Иллюстративные сигнатурные гены, ассоциированные с эозинофилами, изображены на **фиг. 11** и включают без ограничения ADARB1, ASB2, CLC, HDC, IL1RL1, PTPN7, SIGLEC8, SYNE1 и VSTM1.

[00119] Уровень сигнатурных генов можно определять в биологическом образце с применением любых подходящих способов, известных из уровня техники, для выявления белка, РНК (например, мРНК) и/или ДНК, в том числе без ограничения нозерн-блоттинга, вестерн-блоттинга, саузерн-блоттинга, иммунопреципитации, гибридизации in situ, PCR (например, RT-PCR), матричных технологий (например, серийного анализа экспрессии генов (SAGE), ДНК-микрочипов, секвенирования РНК, биочипов высокой плотности и т. п.), нуклеазных анализов и т. п.

[00120] Используемый в данном документе термин "биологический образец" включает без ограничения культуры клеток или их экстракты; биопсированный материал,

полученный от млекопитающих, или его экстракты; и кровь, слюну, мочу, фекалии, сперму, слезы или другие биологические жидкости или их экстракты. Иллюстративные биологические образцы включают мокроту и кровь.

[00121] Термины "получать" или "получение", используемые в данном документе, относятся к получению во владение физического объекта или величины, например, числовой величины, "непосредственным получением" или "опосредованным получением" физического объекта или величины, таких как ассоциированный с астмой параметр. "Непосредственное получение" означает осуществление способа (например, осуществление синтетического или аналитического способа) с получением физического объекта или величины. "Опосредованное получение" относится к получению физического объекта или величины от другой стороны или источника (например, лаборатории третьей стороны, которая непосредственно получила физический объект или величину). Непосредственное получение физического объекта включает осуществление способа, который предусматривает физическое изменение физического вещества, например, исходного материала. Иллюстративные изменения включают получение физического объекта из двух или более исходных материалов, разрезание или фрагментацию вещества, отделение или очистку вещества, объединение двух или более отдельных объектов в смесь, осуществление химической реакции, которая включает разрыв или образование ковалентной или нековалентной связи. Непосредственное получение величины включает осуществление способа, который предусматривает физическое изменение образца или другого вещества, например, осуществление аналитического способа, который предусматривает физическое изменение вещества, например, образца, аналита или реагента (иногда обозначаемое в данном документе как "физический анализ").

[00122] Информация, которую получают непосредственно, может быть представлена в форме отчета, например, представленного в бумажной или электронной форме, например, из базы данных или приложения в онлайн режиме ("App"). Отчет или информация может быть представлена, например, учреждением здравоохранения, таким как больница или клиника; или медицинским работником, таким как врач или медицинская сестра.

Объем форсированного выдоха за 1 секунду (FEV_1)

[00123] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводят к повышению от исходного уровня объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV_1). В некоторых вариантах осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводят к повышению от исходного уровня объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV_1). В других вариантах осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R в комбинации с антагонистом IL-33 (IL-33) приводит к повышению от исходного уровня объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV_1). Способы измерения FEV_1 известны из уровня техники. Например, для измерения FEV_1 у пациента можно использовать

спирометр, который соответствует рекомендациям Американского торакального общества (ATS)/Европейского респираторного общества (ERS) 2005 года. В качестве руководства можно использовать стандартизацию спирометрии согласно ATS/ERS. Спирометрию, как правило, проводят с 6 до 10 часов утра после воздержания от приема альбутерола в течение по меньшей мере 6 часов. Легочные функциональные тесты, как правило, выполняют в положении пациента сидя, а наибольшую величину записывают в качестве FEV_1 (в литрах).

[00124] В соответствии с определенными вариантами осуществления предусмотрены терапевтические способы или варианты применения, которые приводят к повышению FEV_1 от исходного уровня, составляющему по меньшей мере 0,05 л на неделе 12 после начала лечения фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33, фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-4R, или фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Например, введение антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вызывает повышение FEV_1 от исходного уровня, составляющее приблизительно 0,05 л, 0,10 л, 0,12 л, 0,14 л, 0,16 л, 0,18 л, 0,20 л, 0,22 л, 0,24 л, 0,26 л, 0,28 л, 0,30 л, 0,32 л, 0,34 л, 0,36 л, 0,38 л, 0,40 л, 0,42 л, 0,44 л, 0,46 л, 0,48 л, 0,50 л или больше на неделе 12.

Провокационная проба с бронхиальным аллергеном

[00125] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к снижению воспаления легких, индуцированного провокационной пробой с бронхиальным аллергеном (BAC). В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к снижению воспаления легких, индуцированного BAC. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к снижению воспаления легких, индуцированного BAC. BAC представляет собой модель для тестирования лекарственных средств для лечения астмы и применяется в течение более 30 лет (Diamant et al. Inhaled allergen bronchoprovocation tests. J Allergy Clin Immunol. 2013. 132:1045-1055 e1046; Fahy et al. Analysis of cellular and biochemical constituents of induced sputum after allergen challenge: a method for studying allergic airway inflammation. J Allergy Clin Immunol. 1994. 93:1031-1039; и Inman et al. Dose-dependent effects of inhaled mometasone furoate on airway function and inflammation after allergen inhalation challenge. Am J Respir Crit Care Med. 2001. 164:569-574.) BAC включает вдыхание пациентом аллергена, что приводит к двухфазной ответной реакции дыхательных путей, которая характеризуется ранним (от 30 минут до 2 часов после провокационной пробы с аллергеном) и поздним (от примерно 3 до 8 часов после провокационной пробы с аллергеном) снижением FEV1. Данная модель облегчает оценку аллергической воспалительной реакции посредством измерения изменений в клеточном составе, продуцировании цитокинов и мРНК-сигнатур воспаления в смывах, полученных

посредством бронхоальвеолярного лаважа, бронхиальных биоптатах или индуцированной мокроте.

Измерения мРНК в мокроте

[00126] Образцы индуцированной мокроты применяются в клинических исследованиях астмы для оценки воспаления дыхательных путей. В ходе исследований сравнения мокроты от пациентов с астмой с мокротой от здоровых контрольных субъектов были обнаружены повышенные концентрации IL-33 и ST2 (Hamzaoui et al. Induced sputum levels of IL-33 and soluble ST2 in young asthmatic children. (J Asthma. 2013. 50:803-809 и Salter et al.) IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. Respir Res. 2016. 17:5.), эотаксина, TARC (Heijink et al. Effect of ciclesonide treatment on allergen-induced changes in T cell regulation in asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2008. 145:111-121 и Sekiya et al. Increased levels of a TH2-type CC chemokine thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in serum and induced sputum of asthmatics. Allergy. 2002. 57:173-177), а также как IL-5, так и IL-13 (Park et al. Interleukin-13 and interleukin-5 in induced sputum of eosinophilic bronchitis: comparison with asthma. Chest. 2005. 128:1921-1927 и Peters, M.C., Z.K. Mekonnen, S. Yuan, N.R. Bhakta, P.G. Woodruff и J.V. Fahy. Measures of gene expression in sputum cells can identify TH2-high and TH2-low subtypes of asthma. J Allergy Clin Immunol. 2014. 133:388-394) с точки зрения уровня белка и/или РНК. Уровни цитокинов в мокроте, таких как IL-4, IL-5 и IL-13, повышены и ассоциируются с наличием симптомов астмы и степенью тяжести (Truyen et al. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. Thorax. 2006. 61:202-208.). В ходе предыдущих исследований BAC у пациентов с астмой легкой степени тяжести обуславливала резкое повышение в легких уровней цитокинов, связанных с воспалением 2 типа, таких как IL-13 и IL-5, на примерно 10X. Лечение ингаляционными кортикостероидами значительно подавляло данное опосредованное BAC повышение уровней белка и мРНК цитокинов, связанных с воспалением 2 типа (Zuiker et al. Kinetics of TH2 biomarkers in sputum of asthmatics following inhaled allergen. Eur Clin Respir J. 2015. 2 и Zuiker et al. Sputum RNA signature in allergic asthmatics following allergen bronchoprovocation test. Eur Clin Respir J. 2016. 3:31324.)

[00127] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК цитокинов, связанных с воспалением 2 типа. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК цитокинов, связанных с воспалением 2 типа. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК цитокинов, связанных с воспалением 2 типа. В соответствии с

некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК любого из CCL26, CCL17, SIGLEC8, IL-33, ST2, эотаксина, TARC, IL-4, IL-5, IL-13, ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL13, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, PTGDS или RD3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК любого из CCL26, CCL17, SIGLEC8, IL-33, ST2, эотаксина, TARC, IL-4, IL-5, IL-13, ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL13, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, PTGDS или RD3. . В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней белка и/или мРНК любого из CCL26, CCL17, SIGLEC8, IL-33, ST2, эотаксина, TARC, IL-4, IL-5, IL-13, ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL13, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, PTGDS или RD3. .

Цитокины и хемокины в мокроте

[00128] В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней цитокинов и хемокинов, связанных с обоими из сигнальных путей IL-33 и IL4R, включающими IL-13, IL-5, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочный хемокин, регулируемый активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксин-3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней цитокинов и хемокинов, связанных с обоими из сигнальных путей IL-33 и IL4R, включающими IL-13, IL-5, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочный хемокин, регулируемый активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксин-3. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к подавлению индуцированного BAC повышения уровней цитокинов и хемокинов связанных с обоими из сигнальных путей IL-33 и IL4R, включающих IL-13, IL-5, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочный хемокин, регулируемый активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксин-3. Предыдущие исследования показали, что уровень цитокинов и хемокинов можно измерять в мокроте, индуцированной после BAC. Ожидается, что цитокины и хемокины, связанные с обоими из сигнальных путей IL-33 и IL4R, в том числе IL-13, IL-5, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочный хемокин, регулируемый активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксин-3, будут повышены после BAC.

Снижение FEV1 на ранней и поздней фазах после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном

[00129] Изменение легочной функции после BAC представляет собой стандартную конечную точку для большинства исследований с использованием провокационной пробы с аллергеном, в ходе которых оценивают эффект ингаляционных кортикостероидов. У сенсибилизированных пациентов вдыхание аллергена приводит к острой ответной реакции, характеризующейся бронхоспазмом, в пределах периода от 0 до 2 часов после воздействия, которая называется ранней ответной реакцией на аллерген (EAR). Считается, что данная EAR преимущественно представляет собой высвобождение предварительно образованных медиаторов из тучных клеток и, как правило, не характеризуется восприимчивостью к стероиду. За ранней ответной реакцией на аллерген часто следует поздняя ответная реакция на аллерген (LAR), которая возникает по прошествии от примерно 3 до 8 часов после воздействия. Данная LAR наблюдается у доли взрослых пациентов с астмой, составляющей от 50% до 60%. LAR совпадает с начальным притоком воспалительных клеток и, как правило, характеризуется восприимчивостью к стероиду. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к ослаблению индуцированных BAC EAR или LAR, например, как измерено с помощью FEV1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к ослаблению индуцированных BAC EAR или LAR, например, как измерено с помощью FEV1. В соответствии с некоторыми вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к ослаблению индуцированных BAC EAR или LAR, например, как измерено с помощью FEV1.

Результаты измерения фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе

[00130] В ходе BAC было показано, что уровень эозинофилов в мокроте повышается у пациентов с астмой, которые демонстрируют наличие поздней фазы ответной реакции. Несмотря на сообщения относительно взаимосвязи эозинофилов в мокроте и FeNO, FeNO не является маркером, специфичным для эозинофилов, и может иметь место при неэозинофильном воспалении (Haldar et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. N Engl J Med. 2009. 360:973-984.) Более того, уровни мРНК в ткани бронхов коррелируют с результатами измерения FeNO (Porsbjerg et al. IL-33 is related to innate immune activation and sensitization to HDM in mild steroid-free asthma. Clin Exp Allergy. 2016. 46:564-574).

Биомаркеры в сыворотке крови

[00131] Уровни sST2, IL-33, кальцитонина и матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови могут быть повышены после BAC. В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R приводит к снижению степени повышения уровней

sST2, IL-33, кальцитонина и матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови, как правило, наблюдаемого после BAC. В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33 приводит к снижению степени повышения уровней sST2, IL-33, кальцитонина и матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови, как правило, наблюдаемого после BAC. В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-4R и антагониста IL-33 приводит к снижению степени повышения уровней sST2, IL-33, кальцитонина и матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови, как правило, наблюдаемого после BAC.

FEF25-75%

[00132] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к повышению FEF25-75% от исходного уровня. Способы измерения FEF известны из уровня техники. Например, для измерения FEV_1 у пациента можно использовать спирометр, который соответствует рекомендациям Американского торакального общества (ATS)/Европейского респираторного общества (ERS) 2005 года. **FEF25-75** (форсированная объемная скорость выдоха в интервале от 25% до **75**% от объема легких) представляет собой скорость (в литрах в секунду), с которой человек может высвобождать среднюю половину своего воздуха во время максимального выдоха (т. е. форсированная жизненная емкость или FVC). Параметр относится к среднему потоку от точки, в которой 25 процентов FVC было выдохнуто, до точки, в которой 75 процентов FVC было выдохнуто. FEF25-75% субъекта предоставляет информацию о функции мелких дыхательных путей, такую как степень заболевания и/или воспаления малых дыхательных путей. Изменение **FEF25-75** представляет собой ранний показатель обструктивной болезни легких. В определенных вариантах осуществления улучшение и/или увеличение параметра FEF25-75% представляет собой улучшение на по меньшей мере 10%, 25%, 50% или больше по сравнению с исходным уровнем. В определенных вариантах осуществления способы по настоящему изобретению обеспечивают достижение нормальных значений FEF25-75% у субъекта (например, значений в диапазоне от 50-60% и до 130% от среднего значения).

Пиковая объемная скорость выдоха в утреннее и вечернее время (PEF до полудня и PEF после полудня)

[00133] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к повышению от исходного уровня пиковой объемной скорости выдоха в утреннее (до полудня) и/или вечернее время (после полудня) (PEF до полудня и/или PEF после полудня). Способы измерения PEF известны из уровня техники. Например, согласно одному способу измерения PEF пациентам выдают электронный измеритель PEF с целью регистрации PEF в утреннее (до полудня) и

вечернее время (после полудня) (а также суточного применения альбутерола, показателей оценок симптомов астмы в утреннее и вечернее время и числа пробуждений в ночное время вследствие симптомов астмы, которые требуют приема лекарственных препаратов неотложной помощи). Пациентов инструктируют относительно применения устройства и предоставляют пациентам инструкции по применению электронного измерителя PEF в письменном виде. Кроме того, медицинский работник может инструктировать пациентов в отношении того, как записывать соответствующие переменные в электронный измеритель PEF. PEF до полудня, как правило, определяют в течение 15 минут после пробуждения (с 6 до 10 часов утра) до приема альбутерола в любой дозе. PEF после полудня, как правило, определяют в вечернее время (с 6 до 10 часов вечера) до приема альбутерола в любой дозе. Субъекты должны стараться отказаться от приема альбутерола в течение по меньшей мере 6 часов до измерения своей PEF. Пациент предпринимает три попытки измерения PEF и все 3 величины регистрируют посредством электронного измерителя PEF. Обычно для оценки используют максимальное значение. PEF до полудня на исходном уровне можно рассчитать в виде среднего показателя до полудня, зарегистрированного в течение 7 дней до введения первой дозы фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, и PEF после полудня на исходном уровне можно рассчитать в виде среднего показателя после полудня, зарегистрированного в течение 7 дней до введения первой дозы фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R.

[00134] В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления предусмотрены терапевтические способы или варианты применения, которые приводят к повышению PEF до полудня и/или PEF после полудня от исходного уровня на по меньшей мере 1,0 л/мин на неделе 12 после начала лечения фармацевтической композицией, содержащей антагонист к IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Например, введение субъекту, нуждающемуся в этом, или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к повышению PEF от исходного уровня на приблизительно 0,5 л/мин, 1,0 л/мин, 1,5 л/мин, 2,0 л/мин, 2,5 л/мин, 3,0 л/мин, 3,5 л/мин, 4,0 л/мин, 4,5 л/мин, 5,0 л/мин, 5,5 л/мин, 6,0 л/мин, 6,5 л/мин, 7,0 л/мин, 7,5 л/мин, 8,0 л/мин, 8,5 л/мин, 9,0 л/мин, 9,5 л/мин, 10,0 л/мин, 10,5 л/мин, 11,0 л/мин, 12,0 л/мин, 15 л/мин, 20 л/мин или больше на неделе 12.

Применение альбутерола/левальбутерола

[00135] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к снижению от исходного уровня ежедневного применения альбутерола или левальбутерола. Число ингаляций альбутерола/левальбутерола может записываться пациентами ежедневно в дневнике, измерителе PEF или другом записывающем устройстве. На протяжении лечения

фармацевтической композицией, описанной в данном документе, применение альбутерола/левальбутерола, как правило, можно осуществлять при необходимости в зависимости от симптомов, а не на постоянной основе или профилактически. Исходное число ингаляций альбутерола/левальбутерола в сутки можно рассчитать на основе средней величины в течение 7 дней до введения первой дозы фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R.

[00136] В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления предусмотрены терапевтические способы или варианты применения, которые приводят к снижению применения альбутерола/левальбутерола от исходного уровня на по меньшей мере 0,25 впрыскивания в день на неделе 12 после начала лечения фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Например, введение субъекту, нуждающемуся в этом, или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вызывает снижение применения альбутерола/левальбутерола от исходного уровня на приблизительно 0,25 впрыскивания в день, 0,50 впрыскивания в день, 0,75 впрыскивания в день, 1,00 впрыскивания в день, 1,25 впрыскивания в день, 1,5 впрыскивания в день, 1,75 впрыскивания в день, 2,00 впрыскивания в день, 2,25 впрыскивания в день, 2,5 впрыскивания в день, 2,75 впрыскивания в день, 3,00 впрыскивания в день или больше на неделе 12.

Применение OCS

[00137] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R можно применять в сочетании с OCS, таким как преднизон для перорального применения. Количество введений OCS может ежедневно записываться пациентами в дневнике, измерителе PEF или другом записывающем устройстве. На протяжении лечения фармацевтической композицией, описанной в данном документе, периодическое кратковременное применение преднизона, как правило, можно использовать для контроля острых эпизодов астмы, например, эпизодов, при которых с помощью бронходилататоров и других противовоспалительных средств не удается контролировать симптомы. В других аспектах преднизон используют параллельно с другим ICS или в качестве замены другого ICS. Преднизон для перорального применения можно вводить в дозах, составляющих приблизительно 5 мг, 10 мг, 15 мг, 20 мг, 25 мг, 30 мг, 35 мг или 40 мг. OCS можно необязательно вводить один раз в сутки или несколько раз в сутки (например, два раза в сутки, три раза в сутки, четыре раза в сутки и т. п.)

[00138] В определенных иллюстративных вариантах осуществления предусмотрены способы или варианты применения для снижения или устранения зависимости субъекта от применения OCS. Снижение или устранение зависимости от стероидов является исключительно предпочтительным и необходимым. В определенных вариантах осуществления снижение на 50% или более (например, 50%, 60%, 70%, 80%,

90% или более) дозы OCS достигается после введения терапевтического средства на основе антитела к IL-4R, терапевтического средства на основе антитела к IL-33 или терапевтического средства на основе антитела к IL-33 в комбинации с терапевтическим средством на основе антитела к IL-4R в течение определенного периода времени (например, на неделе 240). В определенных вариантах осуществления OCS фактически устраняется через 40 недель, 45 недель, 50 недель, 52 недели или больше после первой дозы, следующей за введением начальной дозы. В других вариантах осуществления уровень применения OCS снижается до менее 5 мг в сутки (например, менее 5 мг, 4 мг, 3 мг, 2 мг или меньше в сутки). В других вариантах осуществления зависимость от применения OCS фактически устраняется через 3 месяца, 6 месяцев, 9 месяцев или 1 год после лечения антагонистом IL-33, антагонистом IL-4R или антагонистом IL-33 и антагонистом IL-4R.

Показатель согласно опроснику по контролю астмы из 5 пунктов (ACQ)

[00139] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к снижению от исходного уровня показателя согласно опроснику по контролю астмы из пяти пунктов (ACQ5). ACQ5 представляет собой утвержденный опросник для оценки контроля астмы.

[00140] В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления предусмотрены терапевтические способы или варианты применения, которые приводят к снижению показателя ACQ5 от исходного уровня на по меньшей мере 0,10 балла на неделе 12 после начала лечения фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Например, введение субъекту, нуждающемуся в этом, или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вызывает снижение показателя ACQ от исходного уровня на приблизительно 0,10 балла, 0,15 балла, 0,20 балла, 0,25 балла, 0,30 балла, 0,35 балла, 0,40 балла, 0,45 балла, 0,50 балла, 0,55 балла, 0,60 балла, 0,65 балла, 0,70 балла, 0,75 балла, 0,80 балла, 0,85 балла или больше на неделе 12.

Пробуждения в ночное время

[00141] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к снижению от исходного уровня среднего числа пробуждений в ночное время.

[00142] В определенных вариантах осуществления способы или варианты применения обеспечивают снижение среднего числа пробуждений в ночное время от исходного уровня на по меньшей мере приблизительно 0,10 раза за ночь на неделе 12 после начала лечения. Например, введение субъекту, нуждающемуся в этом, или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R может вызывать снижение среднего числа пробуждений в

ночное время от исходного уровня на приблизительно 0,10 раза за ночь, 0,15 раза за ночь, 0,20 раза за ночь, 0,25 раза за ночь, 0,30 раза за ночь, 0,35 раза за ночь, 0,40 раза за ночь, 0,45 раза за ночь, 0,50 раза за ночь, 0,55 раза за ночь, 0,60 раза за ночь, 0,65 раза за ночь, 0,70 раза за ночь, 0,75 раза за ночь, 0,80 раза за ночь, 0,85 раза за ночь, 0,90 раза за ночь, 0,95 раза за ночь, 1,0 раз за ночь, 2,0 раза за ночь или больше на неделе 12.

Показатель теста для оценки исхода болезней носа и придаточных пазух носа из 22 пунктов (SNOT-22)

[00143] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R приводит к снижению от исходного уровня показателя теста для оценки исхода болезней носа и придаточных пазух носа из 22 пунктов (SNOT-22). SNOT-22 представляет собой утвержденный опросник для определения влияния хронического риносинусита на качество жизни (Hopkins et al. 2009, Clin. Otolaryngol. 34: 447-454).

[00144] В соответствии с определенными иллюстративными вариантами осуществления предусмотрены терапевтические способы или варианты применения, которые приводят к снижению показателя SNOT-22 от исходного уровня на по меньшей мере 1 балл на неделе 12 после начала лечения фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Например, введение субъекту, нуждающемуся в этом, или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R может вызывать снижение показателя SNOT-22 от исходного уровня на приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 баллов или больше на неделе 12.

Биомаркеры

[00145] В соответствии с определенными вариантами осуществления введение пациенту или применение по отношению к нему антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вызывает улучшение функции легких, как измерено с помощью биомаркера. Например, биомаркером может быть фракция оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO), эотаксин-3, суммарный IgE, периостин или хемокин, регулируемый тимусом и активацией (TARC). В определенных вариантах осуществления на улучшение функции легких указывает снижение или увеличение (в зависимости от ситуации) на неделе 4, неделе 12 или неделе 24 после лечения.

Способы лечения астмы

[00146] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении предусмотрены способы лечения аллергической астмы, в том числе, например, аллергической астмы легкой степени и персистирующей аллергической астмы легкой степени, у субъекта, нуждающегося в этом, при этом способы включают введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и

антагонист IL-4R, для лечения аллергической астмы, в том числе, например, аллергической астмы легкой степени и персистирующей аллергической астмы легкой степени, у субъекта, нуждающегося в этом. В определенных вариантах осуществления способы являются применимыми для лечения аллергической астмы у субъекта. В некоторых вариантах осуществления способы являются применимыми для лечения персистирующей аллергической астмы легкой степени у субъекта.

[00147] Используемый в данном документе термин "астма" можно использовать взаимозаменяемо с "рецидивирующей астмой" или "бронхиальной астмой". "Астма", "бронхиальная астма" и "рецидивирующая астма" относятся к астме, для которой справедлива одна или любая комбинация из следующих: возникновение симптомов в течение 2 дней в неделю или реже; симптомы не нарушают повседневные виды деятельности; симптомы в ночное время появляются реже 2 дней в месяц; или результаты один или несколько легочных функциональных тестов (например, объем форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) и/или пиковая объемная скорость выдоха (PEF) составляет более 80%) находятся в пределах нормальных, когда субъект не страдает от приступа астмы.

[00148] Выражение "аллергическая астма" относится к астме, которая провоцируется аллергенами, например, вдыхаемыми аллергенами (например, круглогодичными аэроаллергенами и сезонными аэроаллергенами), такими как пылевые клещи, перхоть домашних животных, пыльца, грибки и т. п. В определенных вариантах осуществления аллерген представляет собой аллерген клеща домашней пыли (HDM) (например, круглогодичный аэроаллерген).

[00149] Используемый в данном документе термин "круглогодичный аэроаллерген" относится к присутствующим в воздухе аллергенам, которые могут находиться в окружающей среде круглый год, таким как пылевые клещи, грибки, перхоть и т. п. Круглогодичные аэроаллергены включают без ограничения Alternaria alternata, Aspergillus fumigatus, Aureobasidium pullulans, Candida albicans, Cladosporium herbarum, Dermatofagoides farinae, Dermatofagoides pteronyssinus, Mucor racemosus, Penicillium chrysogenum, Phoma betae, Setomelanomma rostrata, Stemphylium herbarum, кошачью перхоть, собачью перхоть, коровью перхоть, куриные перья, гусиные перья, утиные перья, таракана (например, рыжего таракана, черного таракана), мышиную мочу, арахисовую пыль, пыль древесных орехов и т. п.

[00150] Используемый в данном документе термин "сезонный аэроаллерген" относится к присутствующим в воздухе аллергенам, которые находятся в окружающей среде сезонно, таким как пыльца и споры. Сезонные аэроаллергены включают без ограничения пыльцу деревьев (например, березы, ольхи, кедра, лещины, граба, конского каштана, ивы, тополя, липы, сосны, клена, дуба, маслины и т. п.), пыльцу трав (например, плевела, рогоза и т. п.), пыльцу сорняков (например, амброзии, подорожника, крапивы, полыни, белой мари, щавеля и т. п.), грибковые споры, количество которых увеличивается

в определенные сезоны, при определенных температурах и т. п. (например, плесневые грибы), и т. п.

[00151] Используемый в данном документе термин "персистирующая астма" или "персистирующая бронхиальная астма" относится к астме, которая протекает более тяжело, чем (бронхиальная) астма/рецидивирующая (бронхиальная) астма. У субъекта, страдающего персистирующей астмой или персистирующей бронхиальной астмой, наблюдается одно или несколько из следующего: возникновение симптомов чаще 2 дней в неделю; симптомы, которые не нарушают повседневных видов деятельности; симптомы в ночное время, которые возникают более 2 дней в месяц; или результаты одного или нескольких легочных функциональных тестов (например, объем форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) и/или пиковая объемная скорость выдоха (PEF) менее 80%) отклоняются от нормальных, когда субъект не страдает от приступов астмы; субъект зависит от ежедневного приема лекарственного препарата для контроля астмы; субъект принимал системный стероид чаще одного раза за последний год после тяжелого приступа астмы; или применение бета-2-агониста короткого действия более двух дней в неделю для облегчения симптомов астмы.

[00152] Астма/рецидивирующая астма, бронхиальная астма/рецидивирующая бронхиальная астма и персистирующая астма/персистирующая бронхиальная астма могут быть классифицированы как "легкой степени", "умеренной степени", "тяжелой степени" или "со степенью тяжести от умеренной до тяжелой". "Рецидивирующую астму легкой степени" или "рецидивирующую бронхиальную астму легкой степени" определяют по возникновению симптомов менее одного раза в неделю и объему форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) или пиковой объемной скорости выдоха (PEF), составляющих $\geq$ 80%. "Персистирующая астма легкой степени" или "персистирующая бронхиальная астма легкой степени" отличается тем, что частота возникновения симптомов составляет более одного раза в неделю, но реже одного раза в день, а вариабельность FEV_1 или PEF составляет $<$ 20% - 30%. "Умеренную рецидивирующую астму" или "умеренную рецидивирующую бронхиальную астму" определяют по возникновению симптомов менее одного раза в неделю и объему форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) или пиковой объемной скорости выдоха (PEF), составляющих 60-80%. "Умеренную персистирующую астму" или "умеренную персистирующую бронхиальную астму" определяют по возникновению ежедневных симптомов, обострений, которые могут влиять на деятельность и/или сон, ночных симптомов более одного раза в неделю, ежедневному применению ингаляционного бета-2-агониста короткого действия и объему форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) или пиковой объемной скорости выдоха (PEF) на уровне 60-80%. "Тяжелую рецидивирующую астму" или "тяжелую рецидивирующую бронхиальную астму" определяют по возникновению симптомов менее одного раза в неделю и объему форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) или пиковой объемной скорости выдоха (PEF) на уровне 60%. "Тяжелую персистирующую астму" или "тяжелую персистирующую бронхиальную астму" определяют по

возникновению ежедневных симптомов, частых обострений, которые могут влиять на деятельность и/или сон, частых ночных симптомов, ограничению физической активности, ежедневному применению ингаляционного бета-2-агониста короткого действия и объему форсированного выдоха за одну секунду (FEV_1) или пиковой объемной скорости выдоха (PEF), составляющих 60%. "Рецидивирующую астму со степенью тяжести от умеренной до тяжелой" или "рецидивирующую бронхиальную астму со степенью тяжести от умеренной до тяжелой" определяют по наличию симптомов между симптомами умеренной рецидивирующей астмы/умеренной рецидивирующей бронхиальной астмы и тяжелой рецидивирующей астмы/тяжелой рецидивирующей бронхиальной астмы. "Персистирующую астму со степенью тяжести от умеренной до тяжелой" или "персистирующую бронхиальную астму со степенью тяжести от умеренной до тяжелой" определяют по наличию симптомов между симптомами умеренной персистирующей астмы/умеренной персистирующей бронхиальной астмы и тяжелой персистирующей астмы/тяжелой персистирующей бронхиальной астмы.

[00153] Используемый в данном документе термин "недостаточно контролируемая астма" относится к пациентам, у которых астма либо "не контролируется надлежащим образом" либо "очень плохо контролируется", что определено в "Expert Panel Report 3: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma," National Heart, Blood and Lung Institute, NIH, Aug. 28, 2007. "Не контролируемую надлежащим образом астму" определяют по наличию симптомов более двух дней в неделю, пробуждений в ночное время от одного до трех раз в неделю, некоторых ограничений повседневной деятельности, применению бета$_2$-агониста короткого действия для контроля симптомов более двух раз в неделю, FEV_1, составляющего 60-80% от прогнозируемой величины и/или личного наилучшего показателя, показателю ATAQ, составляющему 1-2, показателю ACQ, составляющему 1,5 или больше, и показателю ACT, составляющему 16-19. "Очень плохо контролируемую астму" определяют по наличию симптомов в течение дня, пробуждений в ночное время четыре раза или больше в неделю, существенных ограничений повседневной деятельности, применению бета$_2$-агониста краткого действия для контроля симптомов несколько раз в день, FEV_1, составляющего менее 60% от прогнозируемой величины и/или личного наилучшего показателя, по показателю ATAQ, составляющему 3-4, отсутствию данных о показателе ACQ и показателю ACT, составляющему 15 или меньше.

[00154] В некоторых вариантах осуществления субъекта идентифицируют как имеющего "неконтролируемую астму со степенью тяжести от умеренной до тяжелой", если врач поставил такой диагноз субъекту, опираясь на Руководства Глобальной инициативы по бронхиальной астме (GINA) 2009 года и с учетом одного или нескольких из следующих критериев: i) существующее лечение с использованием дозы ICS/LABA от умеренной до высокой (2 флутиказона пропионата по 250 мкг два раза в сутки или равноэффективная суточная доза ICS) с фиксированной дозой ICS/LABA в течение 1 месяца или больше до введения начальной дозы антагониста IL-4R, антагониста IL-33 или

начальной дозы антагониста IL-33 и антагониста IL-4R; ii) FEV_1 40-80% от прогнозируемой нормы до введения начальной дозы антагониста IL-4R, антагониста IL-33 или начальной дозы антагониста IL-33 и антагониста IL-4R; iii) показатель ACQ-5 1,5 или больше до введения начальной дозы антагониста IL-4R, антагониста IL-33 или начальной дозы антагониста IL-33 и антагониста IL-4R; iv) обратимость по меньшей мере 12% и 200 мл FEV_1 после 200-400 мкг (от 2 до 4 ингаляций) сальбутамола/альбутерола до введения начальной дозы антагониста IL-4R, антагониста IL-33 или начальной дозы антагониста IL-33 и антагониста IL-4R; или v) наличие любого из следующих явлений, перенесенного в течение 1 года до введения начальной дозы антагониста IL-4R, антагониста IL-33 или начальной дозы антагониста IL-33 и антагониста IL-4R: (a) лечение с использованием 1 или больше системной стероидной пульс-терапии (пероральной или парентеральной) по причине обострения астмы, (b) госпитализация или визит в отделение неотложной/скорой медицинской помощи из-за обострения астмы.

[00155] Термин "тяжелая астма" относится к астме, при которой соответствующий контроль не может быть достигнут при лечении высокими дозами ингаляционных кортикостероидов и дополнительных контролирующих лекарственных препаратов (например, ингаляционных длительнодействующих бета 2-агонистов, монтелукаста и/или теофиллина) или при терапии пероральным кортикостероидом (например, в течение по меньшей мере шести месяцев в год), или он утрачивается при снижении лечения. В определенных вариантах осуществления тяжелая астма включает астму, лечение которой осуществляют высокими дозами ICS и по меньшей мере одним дополнительным контролирующим лекарственным препаратом (например, LABA, монтелукастом или теофиллином) или пероральными кортикостероидами > 6 месяцев/год, где по меньшей мере одно из следующего происходит или может произойти при снижении лечения: ACT < 20 или ACQ > 1,5; по меньшей мере 2 обострения за последние 12 месяцев; по меньшей мере 1 обострение, лечение которого осуществляли в больнице или требующее искусственной вентиляции легких за последние 12 месяцев; или FEV1<80% (если FEV1/FVC ниже нижней границы нормы).

[00156] Термин "стероидозависимая астма" относится к астме, которая требует одного или нескольких из следующих способов лечения: лечение в виде частыми курсами кратковременной пульс-терапии пероральными кортикостероидами в течение последних 12 месяцев; регулярное применение высоких доз ингаляционных кортикостероидов в течение последних 12 месяцев; регулярное применение инъекционных кортикостероидов длительного действия; ежедневное применение пероральных кортикостероидов; применение пероральных кортикостероидов через день или длительное применение пероральных кортикостероидов за прошедший год.

[00157] Термин "астма, зависимая от перорального кортикостероида" относится к субъекту, в анамнезе у которого имеется ≥ 3 30-дневных курсов приема перорального кортикостероида (OCS) в течение 12-месячного периода и первичный диагноз астмы в течение 12 месяцев после первого курса приема OCS. У субъектов с OCS-зависимой

астмой могут также наблюдаться одно или любая комбинацию из следующего: получали назначенные врачом LABA и высокую дозу ICS (общая суточная доза > 500 мкг эквивалента сухого порошкообразного состава на основе флутиказона пропионата) в течение по меньшей мере 3 месяцев (ICS и LABA могут быть частями комбинированного лекарственного препарата или предоставлены в отдельных ингаляторах); получали дополнительные поддерживающие лекарственные препараты, контролирующие астму, в соответствии со стандартами лечения, например, антагонисты лейкотриеновых рецепторов (LTRA), теофиллин, антагонисты мускариновых рецепторов длительного действия (LAMA), вторичные ICS и кромоны; получали OCS для лечения астмы в дозе от ≥ 7,5 до ≤ 30 мг (преднизон или эквивалент преднизолона); получали дозу OCS, вводимую через день (или разные дозы через день); FEV1 в утреннее время до введения бронходилататора (BD) составлял < 80% от прогнозируемой нормы; наличие признаков астмы, подтверждаемых обратимостью FEV1 ≥ 12% и ≥ 200 мл после BD (альбутерол/сальбутатомол) (15-30 мин после 4 впрыскиваний альбутерола/сальбутатомола); или они имеют в анамнезе по меньшей мере одно явление обострения астмы в течение 12 месяцев.

[00158] В одном аспекте представлены способы лечения астмы, предусматривающие: (a) отбор пациента, который характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим по меньшей мере 300 клеток на микролитр; и (b) введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения пациент характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим по меньшей мере 300 клеток на микролитр.

[00159] В другом аспекте представлены способы лечения астмы, предусматривающие: (a) отбор пациента, который характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим по меньшей мере 150-299 клеток на микролитр; и (b) введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения пациент характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим 150-299 клеток на микролитр.

[00160] В другом аспекте представлены способы лечения астмы, предусматривающие: (a) отбор пациента, который характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим менее чем 150 клеток на микролитр; и (b) введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения пациент характеризуется уровнем эозинофилов в крови, составляющим менее чем 150 клеток на микролитр.

[00161] В одном аспекте предусмотрены способы лечения астмы, предусматривающие: (a) отбор пациента, который характеризуется низким уровнем уровня периостина; и (b) введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей

антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения пациент характеризуется низким уровнем уровня периостина.

[00162] В другом аспекте представлены способы лечения астмы, предусматривающие: (a) отбор пациента, который характеризуется высоким уровнем периостина; и (b) введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения пациент характеризуется высоким уровнем уровня периостина.

[00163] Используемое в данном документе выражение "высокий уровень периостина" относится к результату измерения уровня периостина в крови, который превышает или равен приблизительно 60 нг/мл, превышает или равен приблизительно 65 нг/мл, превышает или равен приблизительно 70 нг/мл, превышает или равен приблизительно 75 нг/мл, превышает или равен приблизительно 80 нг/мл, превышает или равен приблизительно 85 нг/мл, превышает или равен приблизительно 90 нг/мл, превышает или равен приблизительно 95 нг/мл, превышает или равен приблизительно 100 нг/мл. В конкретных иллюстративных вариантах осуществления высокий уровень периостина превышает или равен приблизительно 75,0 нг/мл или превышает или равен приблизительно 74,4 нг/мл.

[00164] Используемый в данном документе термин "низкий уровень периостина" относится к результату измерения уровня периостина в крови, который составляет менее приблизительно 100 нг/мл, менее приблизительно 95 нг/мл, менее приблизительно 90 нг/мл, менее приблизительно 85 нг/мл, менее приблизительно 80 нг/мл, менее приблизительно 75 нг/мл, менее приблизительно 70 нг/мл, менее приблизительно 65 нг/мл или менее приблизительно 60 нг/мл. В особо иллюстративных вариантах осуществления низкий уровень периостина составляет менее приблизительно 75,0 нг/мл или менее приблизительно 74,4 нг/мл.

[00165] В родственном аспекте представлены способы лечения астмы, предусматривающие дополнительную терапию к фоновой терапии. В родственном аспекте также предусмотрен антагонист IL-33 для применения для лечения аллергической астмы у пациента, где антагонист IL-33 применяется в качестве дополнительной терапии по отношению к фоновой терапии. В определенных вариантах осуществления антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R вводят в качестве дополнительной терапии пациенту с астмой, который получает фоновую терапию в течение определенного периода времени (например, 1 недели, 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 5 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев, 24 месяцев или более длительного периода) (также называемого "стабильной фазой"). В некоторых вариантах осуществления фоновая терапия предусматривает ICS и/или LABA.

[00166] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение включает способ снижения зависимости пациента с астмой от ICS и/или LABA, предназначенных

для лечения одного или нескольких обострений аллергической астмы, предусматривающий: (a) отбор пациента, у которого имеется астма, которая плохо контролируется фоновой терапией астмы, предусматривающей ICS, LABA или их комбинацию; и введение пациенту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. В одном аспекте композиции для применения у пациента имеется астма, которая плохо контролируется фоновой терапией астмы, предусматривающей ICS, LABA или их комбинацию.

[00167] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение охватывает способы лечения или облегчения состояний или осложнений, ассоциированных с астмой, таких как хронический риносинусит, аллергический ринит, аллергический грибковый риносинусит, аллергический бронхолегочный аспергиллез, объединенное заболевание дыхательных путей, синдром Черджа-Стросса, васкулит, хроническая обструктивная болезнь легких (COPD) и бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, для лечения состояний или осложнений, ассоциированных с астмой, таких как хронический риносинусит, аллергический ринит, аллергический грибковый риносинусит, аллергический бронхолегочный аспергиллез, объединенное заболевание дыхательных путей, синдром Черджа-Стросса, васкулит, хроническая обструктивная болезнь легких (COPD) и бронхоспазм, вызванный физической нагрузкой, у субъекта, нуждающегося в этом.

[00168] Настоящее изобретение также включает способы лечения персистирующей астмы. Также предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, для лечения персистирующей астмы у субъекта, нуждающегося в этом. Используемый в данном документе термин "персистирующая астма" означает, что у субъекта возникают симптомы по меньшей мере один раз в неделю днем и/или ночью, при этом симптомы длятся от нескольких часов до нескольких дней. В определенных альтернативных вариантах осуществления персистирующая астма является "слабо персистирующей" (например, более двух раз в неделю, но менее одного раза в день с симптомами, которые являются достаточно тяжелыми, чтобы нарушать виды повседневной деятельности или сон, и/или если дыхательная функция является нормальной или обратимой при ингаляции бронходилататора), "умеренно персистирующей" (например, симптомы возникают ежедневно, при этом сон прерывается по меньшей мере один раз в неделю и/или при этом дыхательная функция является умеренно нарушенной) или "тяжело персистирующей" (например, непрерывные симптомы, несмотря на корректное применение утвержденных лекарственных препаратов, и/или если дыхательная функция сильно нарушена).

Антагонисты интерлейкина-33 (IL-33) или антагонисты рецептора интерлейкина-4 (IL-4R)

[00169] Способы, раскрытые в данном документе, необязательно включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтической композиции, содержащей антагонист IL-33. Используемый в данном документе термин "антагонист IL-33" означает любое средство, которое связывается или взаимодействует с IL-33 человека и подавляет нормальную биологическую сигнальную функцию IL-33 при экспрессии IL-33 на клетке in vitro или in vivo.

[00170] Способы, раскрытые в данном документе, необязательно включают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R. Используемый в данном документе термин "антагонист IL-4R" означает любое средство, которое связывается или взаимодействует с IL-4R человека и подавляет нормальную биологическую сигнальную функцию IL-4R при экспрессии IL-4R на клетке in vitro или in vivo.

[00171] Неограничивающие примеры категорий антагонистов IL-33 и антагонистов IL-4R включают низкомолекулярные антагонисты IL-33, низкомолекулярные антагонисты IL-4R, аптамеры к IL-33, аптамеры к IL-4R, пептидные антагонисты IL-33 или пептидные антагонисты IL-4R (например, молекулы "пептид-ассоциированных антител") и антитела или антигенсвязывающие фрагменты антител, которые специфично связывают IL-33 человека или IL-4R человека.

[00172] Согласно определенным вариантам осуществления антагонист IL-33 предусматривает антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в контексте представленных в настоящем изобретении способов, описанных в других частях данного документа. Например, в одном варианте осуществления антагонистом IL-33 является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-33 и содержат последовательности CDR (определяющего комплементарность участка) тяжелой цепи и легкой цепи из вариабельного участка тяжелой цепи (HCVR) и вариабельного участка легкой цепи (LCVR) под SEQ ID NO: 2 и 10 соответственно. В другом варианте осуществления антагонист IL-33 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-33 и содержат последовательности CDR тяжелой и легкой цепей под SEQ ID NO: 4, 6 и 8 и SEQ ID NO: 12, 14 и 16 соответственно. В другом варианте осуществления антагонист IL-33 представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-33 и содержат пару HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 2 и 10 соответственно.

HCVR REGN3500, последовательность ДНК:

[00173] aggtgcagct ggtggagtct gggggaaact tggaacagcc tgggggtcc cttagactct cctgtacagc ctctggattc acctttagca gatctgccat gaactgggtc cgccgggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcaggaa ttagtggtag tggtggtcga acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaat acgctatatc tgcaaatgaa cagcctgagc gccgaggaca cggccgcata ttactgtgcg aaagattcgt atactaccag ttggtacgga ggtatggacg tctggggcca cgggaccacg gtcaccgtct cctca (SEQ ID NO: 1).

HCVR REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00174]
VQLVESGGNLEQPGGSLRLSCTASGFTFSRSAMNWVRRAPGKGLEWVSGISGSGGRTY YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAAYYCAKDSYTTSWYGGMDVWGHGT TVTVSS (SEQ ID NO: 2).

HCDR1 REGN3500, последовательность ДНК:

[00175] ggattcacctt tagcagatct gcc (SEQ ID NO: 3).

HCDR1 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00176] GFTFSRSA (SEQ ID NO: 4).

HCDR2 REGN3500, последовательность ДНК:

[00177] attagtggtag tggtggtcga aca (SEQ ID NO: 5).

HCDR2 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00178] ISGSGGRT (SEQ ID NO: 6).

HCDR3 REGN3500, последовательность ДНК:

[00179] gcgaaagattc gtatactacc agttggtacg gaggtatgga cgtc (SEQ ID NO: 7).

HCDR3 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00180] AKDSYTTSWYGGMDV (SEQ ID NO: 8).

LCVR REGN3500, последовательность ДНК:

[00181] acatccagat gacccagtct ccatcttccg tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcacttgtcg ggcgagtcag ggtattttca gctggttagc ctggtatcag cagaaaccag gaaaagcccc taagctcctg atctatgctg cttccagttt acaaagtggg gtcccatcaa gattcagcgg cagtggatct gggacagatt tcactctcac catcagcagc ctgcagcctg aggattttgc aatttactat tgtcaacagg ctaacagtgt cccgatcacc ttcggccaag ggacacgact ggagattaaa cga (SEQ ID NO: 9).

LCVR REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00182]
IQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIFSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAIYYCQQANSVPITFGQGTRLEIKR (SEQ ID NO: 10).

LCDR1 REGN3500, последовательность ДНК:

[00183] cagggtatttt cagctgg (SEQ ID NO: 11).

LCDR1 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00184] QGIFSW (SEQ ID NO: 12).

LCDR2 REGN3500, последовательность ДНК:

[00185] gctgcttcc (SEQ ID NO: 13).

LCDR2 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00186] AAS (SEQ ID NO: 14).

LCDR3 REGN3500, последовательность ДНК:

[00187] caacaggctaa cagtgtcccg atcacc (SEQ ID NO: 15).

LCDR3 REGN3500, аминокислотная последовательность:

[00188] QQANSVPIT (SEQ ID NO: 16).

[00189] В другом варианте осуществления антагонист IL-33 представляет собой антитело REGN3500, которое содержит пару HC/LC под SEQ ID NO: 18 и 20

соответственно.

Последовательность ДНК тяжелой цепи REGN3500:

[00190] aggtgcagct ggtggagtct gggggaaact tggaacagcc tggggggtcc cttagactct cctgtacagc ctctggattc acctttagca gatctgccat gaactgggtc cgccgggctc cagggaaggg gctggagtgg gtctcaggaa ttagtggtag tggtggtcga acatactacg cagactccgt gaagggccgg ttcaccatct ccagagacaa ttccaagaat acgctatatc tgcaaatgaa cagcctgagc gccgaggaca cggccgcata ttactgtgcg aaagattcgt atactaccag ttggtacgga ggtatggacg tctggggcca cgggaccacg gtcaccgtct cctcagcctc caccaagggc ccatcggtct tccccctggc gccctgctcc aggagcacct ccgagagcac agccgccctg ggctgcctgg tcaaggacta cttccccgaa ccggtgacgg tgtcgtggaa ctcaggcgcc ctgaccagcg gcgtgcacac cttcccggct gtcctacagt cctcaggact ctactccctc agcagcgtgg tgaccgtgcc ctccagcagc ttgggcacga agacctacac ctgcaacgta gatcacaagc ccagcaacac caaggtggac aagagagttg agtccaaata tggtccccca tgcccaccct gcccagcacc tgagttcctg gggggaccat cagtcttcct gttcccccca aaacccaagg acactctcat gatctcccgg acccctgagg tcacgtgcgt ggtggtggac gtgagccagg aagaccccga ggtccagttc aactggtacg tggatggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag ttcaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaaggcctcc cgtcctccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctacagca ggctcaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agtccctctc cctgtctctg ggtaaatga (SEQ ID NO: 17).

Аминокислотная последовательность тяжелой цепи REGN3500:

[00191]

VQLVESGGNLEQPGGSLRLSCTASGFTFSRSAMNWVRRAPGKGLEWVSGISGSGGRTY
YADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLSAEDTAAYYCAKDSYTTSWYGGMDVWGHGT
TVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEF
LGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPRE
EQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP
PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK (SEQ ID NO: 18).

Последовательность ДНК легкой цепи REGN3500:

[00192] acatccagat gacccagtct ccatcttccg tgtctgcatc tgtaggagac agagtcacca tcacttgtcg ggcgagtcag ggtattttca gctggttagc ctggtatcag cagaaaccag gaaaagcccc taagctcctg atctatgctg cttccagttt acaaagtggg gtcccatcaa gattcagcgg cagtggatct gggacagatt tcactctcac catcagcagc ctgcagcctg aggattttgc aatttactat tgtcaacagg ctaacagtgt cccgatcacc ttcggccaag ggacacgact ggagattaaa cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcatc ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag tggaaggtgg ataacgccct ccaatcgggt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcagggcc tgagctcgcc cgtcacaaag agcttcaaca ggggagagtg ttag (SEQ ID NO: 19).

Аминокислотная последовательность легкой цепи REGN3500:

[00193]

IQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIFSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSR FSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAIYYCQQANSVPITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSK ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 20).

[00194] Согласно определенным вариантам осуществления антагонист IL-4R предусматривает антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент, которые можно использовать в контексте представленных в настоящем изобретении способов, описанных в других частях данного документа. Например, в одном варианте осуществления антагонистом IL-4R является антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-4R и содержат последовательности CDR (определяющего комплементарность участка) тяжелой цепи и легкой цепи из вариабельного участка тяжелой цепи (HCVR) и вариабельного участка легкой цепи (LCVR) под SEQ ID NO: 27 и 28 соответственно. В другом варианте осуществления антагонист IL-4R представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-4R и содержат последовательности CDR тяжелой и легкой цепей под SEQ ID NO: 21, 22 и 23 и SEQ ID NO: 24, 25 и 26 соответственно. В другом варианте осуществления антагонист IL-4R представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-4R и содержат пару HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 27 и 28 соответственно.

Аминокислотная последовательность HCDR1 дупилумаба.

[00195] GFTFRDYA (SEQ ID NO: 21).

Аминокислотная последовательность HCDR2 дупилумаба.

[00196] ISGSGGNT (SEQ ID NO: 22).

Аминокислотная последовательность HCDR3 дупилумаба.

[00197] AKDRLSITIRPRYYGL (SEQ ID NO: 23).

Аминокислотная последовательность LCDR1 дупилумаба.

[00198] QSLLYSIGYNY (SEQ ID NO: 24).

Аминокислотная последовательность LCDR2 дупилумаба.

[00199] LGS (SEQ ID NO: 25).

Аминокислотная последовательность LCDR3 дупилумаба.

[00200] MQALQTPYT (SEQ ID NO: 26).

Аминокислотная последовательность HCVR дупилумаба.

[00201]

EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGNT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRLSITIRPRYYGLDVWG QGTTVTVS (SEQ ID NO: 27).

Аминокислотная последовательность LCVR дупилумаба.

[00202]

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSIGYNYLDWYLQKSGQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGFYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIK (SEQ ID NO: 28).

[00203] В другом варианте осуществления антагонист IL-4R представляет собой дупилумаб.

Аминокислотная последовательность HC дупилумаба.

[00204]

EVQLVESGGGLEQPGGSLRLSCAGSGFTFRDYAMTWVRQAPGKGLEWVSSISGSGGNT YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDRLSITIRPRYYGLDVWG QGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSR LTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG (SEQ ID NO: 29) (аминокислоты 1-124=HCVR; аминокислоты 125-451=константная область HC).

Аминокислотная последовательность LC дупилумаба.

[00205]

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLYSIGYNYLDWYLQKSGQSPQLLIYLGSNRAS GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGFYYCMQALQTPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSV FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYS LSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 30) (аминокислоты 1-112=LCVR; аминокислоты 112-219=константная область LC).

[00206] Термин "IL-33 человека" (hIL-33) относится к цитокиновому рецептору человека, который специфично связывает интерлейкин-33 (IL-33). Термин "IL-4R человека" (hIL-4R) относится к цитокиновому рецептору человека, который специфично связывает интерлейкин-4 (IL-4), такому как IL-4Rα.

[00207] Термин "антитело" относится к молекулам иммуноглобулинов, содержащим четыре полипептидные цепи, две тяжелые (H) цепи и две легкие (L) цепи, соединенные между собой дисульфидными связями, а также их мультимерам (например, IgM). Каждая тяжелая цепь содержит вариабельный участок тяжелой цепи (в данном документе обозначен аббревиатурой HCVR или V_H) и константный участок тяжелой цепи. Константный участок тяжелой цепи содержит три домена: C_H1, C_H2 и C_H3. Каждая легкая цепь содержит вариабельный участок легкой цепи (в данном документе обозначен аббревиатурой LCVR или V_L) и константный участок легкой цепи. Константный участок легкой цепи содержит один домен (C_L1). Участки V_H и V_L можно дополнительно подразделять на участки гипервариабельности, называемые участками, определяющими комплементарность (CDR), чередующиеся с более консервативными участками, называемыми каркасными участками (FR). Каждый V_H и V_L состоит из трех CDR и четырех FR, расположенных от аминоконца к карбоксиконцу в следующем порядке: FR1,

CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. В различных вариантах осуществления FR антитела к IL-33 и антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего участка могут быть идентичны последовательностям иммуноглобулина зародышевой линии человека или могут быть модифицированы естественным или искусственным путем. Аминокислотная консенсусная последовательность может быть определена на основании "параллельного" анализа двух или более CDR.

[00208] Термин "антитело" также включает антигенсвязывающие фрагменты полных молекул антител. Термины "антигенсвязывающий участок" антитела, "антигенсвязывающий фрагмент" антитела и т. п., используемые в данном документе, включают любые встречающиеся в природе, получаемые ферментативным путем, синтетические или получаемые посредством методик генной инженерии полипептид или гликопротеин, специфично связывающиеся с антигеном с образованием комплекса. Антигенсвязывающие фрагменты антитела могут быть получены, например, из полных молекул антител с помощью любых подходящих стандартных методик, таких как протеолитическое расщепление или рекомбинантные методики генной инженерии, включающие манипуляцию с ДНК, кодирующей вариабельные и необязательно константные домены антитела, и ее экспрессию. Такая ДНК известна и/или легкодоступна, например, из коммерческих источников, библиотек ДНК (в том числе, например, библиотек "фаг-антитело"), или ее можно синтезировать. ДНК можно секвенировать и с ней можно проводить манипуляции химическим путем или с помощью методик молекулярной биологии, например, для расположения одного или нескольких вариабельных и/или константных доменов в подходящей конфигурации или для введения кодонов, создания цистеиновых остатков, модификации, добавления или удаления аминокислот и т. д.

[00209] Неограничивающие примеры антигенсвязывающих фрагментов включают без ограничения: (i) Fab-фрагменты; (ii) F(ab')2-фрагменты; (iii) Fd-фрагменты; (iv) Fv-фрагменты; (v) одноцепочечные молекулы Fv (scFv); (vi) dAb-фрагменты и (vii) минимальные распознающие единицы, состоящие из аминокислотных остатков, имитирующих гипервариабельный участок антитела (например, выделенный участок, определяющий комплементарность (CDR), такой как пептид CDR3), или пептид с ограниченной конформационной свободой FR3-CDR3-FR4. Другие сконструированные молекулы, такие как домен-специфические антитела, однодоменные антитела, антитела с удаленным доменом, химерные антитела, CDR-привитые антитела, диантитела, триантитела, тетраантитела, миниантитела, наноантитела (например, моновалентные антитела, бивалентные антитела и т. д.), иммунофармацевтические средства на основе модульного белка малого размера (SMIP) и акульи вариабельные домены IgNAR, также включены в выражение "антигенсвязывающий фрагмент".

[00210] Антигенсвязывающий фрагмент антитела, как правило, будет содержать по меньшей мере один вариабельный домен. Вариабельный домен может иметь любой размер или аминокислотный состав и будет, как правило, содержать по меньшей мере

один CDR, который располагается смежно с одной или нескольким каркасным последовательностям или находится в рамке считывания с ними. В антигенсвязывающих фрагментах, имеющих домен V_H, связанный с доменом V_L, домены V_H и V_L могут располагаться относительно другу друга в любом подходящем порядке. Например, вариабельный участок может быть димерным и содержать димеры V_H-V_H, V_H-V_L или V_L-V_L. Альтернативно антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать мономерный домен V_H или V_L.

[00211] В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий фрагмент антитела может содержать по меньшей мере один вариабельный домен, ковалентно связанный с по меньшей мере одним константным доменом. Неограничивающие иллюстративные конфигурации вариабельных и константных доменов, которые можно выявить в антигенсвязывающем фрагменте антитела, описанного в данном документе, включают: (i) V_H-C_H1; (ii) V_H-C_H2; (iii) V_H-C_H3; (iv) V_H-C_H1-C_H2; (v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H-C_H2-C_H3; (vii) V_H-C_L; (viii) V_L-C_H1; (ix) V_L-C_H2; (x) V_L-C_H3; (xi) V_L-C_H1-C_H2; (xii) V_L-C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L-C_H2-C_H3 и (xiv) V_L-C_L. В любой конфигурации вариабельных и константных доменов, в том числе любых иллюстративных конфигурациях, перечисленных выше, вариабельные и константные домены могут быть либо непосредственно связаны друг с другом, либо могут быть связаны посредством полного или неполного шарнирного или линкерного участка. Шарнирный участок может состоять из по меньшей мере 2 (например, 5, 10, 15, 20, 40, 60 или больше) аминокислот, что в результате приводит к образованию гибкой или полугибкой связи между смежными вариабельными и/или константными доменами в одной молекуле полипептида, как правило, шарнирный участок может состоять из 2-60 аминокислот, как правило, 5-50 или, как правило, 10-40 аминокислот. Кроме того, антигенсвязывающий фрагмент антитела, описанного в данном документе, может содержать гомодимер или гетеродимер (или другой мультимер) из любых конфигураций вариабельных и константных доменов, изложенных выше, в нековалентной ассоциации друг с другом и/или с одним или несколькими мономерными доменами V_H или V_L (например, с помощью дисульфидной связи(связей)).

[00212] Как и в случае с целыми молекулами антител антигенсвязывающие фрагменты могут быть моноспецифическими или мультиспецифическими (например, биспецифическими). Мультиспецифический антигенсвязывающий фрагмент антитела будет, как правило, содержать по меньшей мере два различных вариабельных домена, где каждый вариабельный домен способен специфически связываться с отдельным антигеном или с другим эпитопом того же антигена. Любой формат мультиспецифических антител может быть адаптирован для применения в контексте антигенсвязывающего фрагмента антитела, описанного в данном документе, с помощью стандартных методик, доступных в данной области техники.

[00213] Константный участок антитела важен в плане способности антитела связывать комплемент и опосредовать клеточнозависимую цитотоксичность. Таким

образом, изотип антитела может быть выбран исходя из того, желательно ли для антитела опосредование цитотоксичности.

[00214] Термин "человеческое антитело" включает антитела, имеющие вариабельные и константные участки, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Человеческие антитела, представленные в настоящем изобретении, при этом могут включать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулинов зародышевой линии человека (например, мутации, вводимые случайным или сайт-специфичным мутагенезом in vitro или соматической мутацией in vivo), например, в CDR и, в частности, CDR3. Однако термин "человеческое антитело" не включает антитела, в которых последовательности CDR, полученные из зародышевой линии другого вида млекопитающего, такого как мышь, привиты на последовательности каркасных участков человека.

[00215] Термин "рекомбинантное человеческое антитело" включает все человеческие антитела, получаемые, экспрессируемые, синтезируемые или выделяемые посредством рекомбинантных методик, такие как антитела, экспрессируемые посредством рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина (описаны дополнительно ниже), антитела, выделяемые из комбинаторной библиотеки рекомбинантных антител человека (описаны дополнительно ниже), антитела, выделяемые из животного (например, мыши), которое является трансгенным по генам человеческих иммуноглобулинов (см., например, Taylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, синтезированные или выделенные посредством любых других способов, которые предусматривают сплайсинг последовательностей генов человеческих иммуноглобулинов с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные человеческие антитела имеют вариабельные и константные участки, полученные из последовательностей иммуноглобулинов зародышевой линии человека. Однако в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела подвергают мутагенезу in vitro (или в случае использования животного, трансгенного по последовательностям человеческого Ig, соматическому мутагенезу in vivo) и, таким образом, аминокислотные последовательности участков V_H и V_L рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, будучи полученными из последовательностей V_H и V_L зародышевой линии человека и родственными им, могут не встречаться в природе в репертуаре антител зародышевой линии человека in vivo.

[00216] Человеческие антитела могут встречаться в двух формах, что связано с гетерогенностью шарнирных участков. В одной форме молекула иммуноглобулина содержит стабильную четырехцепочечную конструкцию массой примерно 150-160 кДа, в которой димеры удерживаются вместе посредством межцепочечной дисульфидной связи, которая связывает тяжелые цепи. Во второй форме димеры не соединены межцепочечными дисульфидными связями, и образуется молекула массой

приблизительно 75-80 кДа, состоящая из ковалентно связанных легкой и тяжелой цепей (полуантитело). Эти формы крайне сложно разделить даже после аффинной очистки.

[00217] Частота появления второй формы в различных изотипах интактных IgG обусловлена без ограничения структурными различиями, связанными с изотипом шарнирного участка антитела. Единственная аминокислотная замена в шарнирном участке шарнира IgG4 человека может значительно снизить появление второй формы (Angal et al. (1993) Molecular Immunology 30:105) до уровней, обычно наблюдаемых при использовании человеческого шарнира IgG1. Настоящее изобретение охватывает антитела с одной или несколькими мутациями в шарнире, участке C_H2 или C_H3, что может быть предпочтительным, например, в условиях получения, для повышения выхода предпочтительной формы антитела.

[00218] Термин "выделенное антитело" означает антитело, которое было идентифицировано и отделено от и/или извлечено из по меньшей мере одного компонента своего естественного окружения. Например, антитело, которое было отделено от или удалено из по меньшей мере одного компонента организма, или из ткани или клетки, в которой антитело изначально присутствует или продуцируется естественным путем, представляет собой "выделенное антитело". Выделенное антитело также включает антитело in situ в рекомбинантной клетке. Выделенные антитела представляют собой антитела, которые были подвергнуты по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Согласно определенным вариантам осуществления выделенное антитело может практически не содержать другой клеточный материал и/или другие химические соединения.

[00219] Термин "специфично связывает" и т. п. означает, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент образуют комплекс с антигеном, который является относительно стабильным в физиологических условиях. Способы определения наличия специфического связывания антитела с антигеном хорошо известны из уровня техники и включают, например, равновесный диализ, поверхностный плазмонный резонанс и т. п. Например, антитело, которое "специфично связывает" IL-33 или IL-4R, как представлено в настоящем изобретении, включает антитела, которые связывают IL-33 или IL-4R соответственно или его часть с K_D менее, составляющей менее приблизительно 1000 нМ, менее приблизительно 500 нМ, менее приблизительно 300 нМ, менее приблизительно 200 нМ, менее приблизительно 100 нМ, менее приблизительно 90 нМ, менее приблизительно 80 нМ, менее приблизительно 70 нМ, менее приблизительно 60 нМ, менее приблизительно 50 нМ, менее приблизительно 40 нМ, менее приблизительно 30 нМ, менее приблизительно 20 нМ, менее приблизительно 10 нМ, менее приблизительно 5 нМ, менее приблизительно 4 нМ, менее приблизительно 3 нМ, менее приблизительно 2 нМ, менее приблизительно 1 нМ или менее приблизительно 0,5 нМ согласно результатам измерения в анализе поверхностного плазмонного резонанса. Однако выделенное антитело, которое специфично связывает IL-33 человека или IL-4R человека, характеризуется перекрестной реактивностью по отношению к другим антигенам, таким

как молекулы IL-33 или IL-4R из других (отличных от человека) видов.

[00220] Антитела к IL-33 или антитела к IL-4R, применимые для данных способов, могут содержать одну или несколько аминокислотных замен, вставок и/или делеций (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 замен, и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 вставок, и/или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 делеций) в каркасных участках и/или участках CDR вариабельных доменов тяжелой и легкой цепей по сравнению с соответствующими последовательностями зародышевой линии, из которых были получены антитела. Такие мутации можно легко выявить посредством сравнения аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном документе, с последовательностями зародышевого типа, доступными, например, из общедоступных баз данных последовательностей антител. Настоящее изобретение включает способы, включающие применение антител и их антигенсвязывающих фрагментов, которые происходят из аминокислотных последовательностей, раскрытых в данном документе, где одна или несколько аминокислот (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот) в одном или нескольких каркасных участках и/или одном или нескольких (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 по отношению к тетрамерному антителу или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 по отношению к HCVR и LCVR антитела) участках CDR мутированы в соответствующий(соответствующие) остаток(остатки) последовательности зародышевой линии, из которой антитело произошло, или в соответствующий(соответствующие) остаток(остатки) последовательности другой зародышевой линии, или в консервативную аминокислотную замену соответствующего(соответствующих) остатка(остатков) зародышевой линии (такие изменения последовательностей называются в данном документе собирательно как "мутации зародышевой линии"). Специалист в данной области техники, начиная с последовательностей вариабельных участков тяжелой и легкой цепи, раскрытых в данном документе, может легко получить множество антител и антигенсвязывающих фрагментов, которые содержат одну или несколько отдельных мутаций зародышевой линии или их комбинации. В определенных вариантах осуществления все остатки каркасных участков и/или CDR в доменах V_H и/или V_L подвергнуты обратной мутации с получением остатков, встречающихся в исходной последовательности зародышевой линии, из которой было получено антитело. В других вариантах осуществления лишь определенные остатки подвергнуты обратной мутации в исходную последовательность зародышевой линии, к примеру лишь подвергнутые мутации остатки, обнаруженные в первых 8 аминокислотах FR1 или в последних 8 аминокислотах FR4, или лишь подвергнутые мутации остатки, обнаруженные в CDR1, CDR2 или CDR3. В других вариантах осуществления один или несколько остатков каркасных участков и/или CDR подвергнуты мутации в соответствующий остаток(остатки) последовательности другой зародышевой линии (т. е. последовательности зародышевой линии, которая отличается от последовательности зародышевой линии, из которой исходно получено антитело). Кроме того, антитела могут содержать любую комбинацию из двух или более мутаций зародышевых линий в

каркасных участках и/или участках CDR, например, где определенные отдельные остатки подвергнуты мутации в соответствующий остаток последовательности определенной зародышевой линии, в то время как определенные другие остатки, которые отличаются от последовательности исходной зародышевой линии, сохраняются или подвергнуты мутации в соответствующий остаток последовательности другой зародышевой линии. Сразу после получения антитела и антигенсвязывающие фрагменты, которые содержат одну или несколько мутаций зародышевых линий, могут быть легко исследованы в отношении одного или нескольких предпочтительных свойств, таких как улучшенная специфичность связывания, повышенная аффинность связывания, улучшенные или усиленные биологические антагонистические или агонистические свойства (в зависимости от ситуации), сниженная иммуногенность и т. п. Применение антител и антигенсвязывающих фрагментов, полученных с помощью этого общего способа, охвачено в настоящем изобретении.

[00221] Настоящее изобретение также включает способы, предусматривающие применение антител к IL33 или к IL-4R, содержащих варианты любых из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе, с одной или несколькими консервативными заменами. Например, настоящее изобретение включает применение антител к IL-4R с аминокислотными последовательностями HCVR, LCVR и/или CDR, например, с 10 или меньше, 8 или меньше, 6 или меньше, 4 или меньше и т. п. консервативными аминокислотными заменами по отношению к любой из аминокислотных последовательностей HCVR, LCVR и/или CDR, раскрытых в данном документе.

[00222] Термин "поверхностный плазмонный резонанс" относится к оптическому феномену, который обеспечивает анализ взаимодействий в реальном времени посредством выявления изменений концентраций белков в биосенсорной матрице, например, с помощью системы BIAcore™ (подразделение Biacore Life Sciences в GE Healthcare, Пискатауэй, Нью-Джерси).

[00223] Термин "K_D" относится к равновесной константе диссоциации взаимодействия определенного антитела и антигена.

[00224] Термин "эпитоп" относится к антигенной детерминанте, которая взаимодействует со специфическим антигенсвязывающим сайтом в вариабельном участке молекулы антитела, известном как паратоп. Один антиген может иметь более одного эпитопа. Таким образом, различные антитела могут связываться с различными областями на антигене и могут оказывать различные биологические эффекты. Эпитопы могут быть конформационными или линейными. Конформационный эпитоп образован пространственно сближенными аминокислотами из различных сегментов линейной полипептидной цепи. Линейный эпитоп образован смежными аминокислотными остатками в полипептидной цепи. При определенных условиях эпитоп может включать фрагменты сахаридов, фосфорильных групп или сульфонильных групп антигена.

Получение человеческих антител

[00225] Из уровня техники известны способы получения человеческих антител в трансгенных мышах. Любые такие известные способы можно применять для конструирования антител человека, которые специфично связывают IL-33 человека или IL-4R человека.

[00226] С помощью технологии VELOCIMMUNE® (см., например, US 6596541, Regeneron Pharmaceuticals) или любого другого известного способа получения моноклональных антител исходно выделяют высокоаффинные химерные антитела к IL-33 или IL-4R с человеческим вариабельным участком и мышиным константным участком. Технология VELOCIMMUNE® включает получение трансгенной мыши с геномом, содержащим человеческие вариабельные участки тяжелой и легкой цепей, функционально связанные с эндогенными локусами мышиного константного участка так, что мышь продуцирует антитело, содержащее человеческий вариабельный участок и мышиный константный участок в ответ на антигенную стимуляцию. ДНК, кодирующую вариабельные участки тяжелой и легкой цепей антитела, выделяют и функционально связывают с ДНК, кодирующей константные участки тяжелой и легкой цепей человека. Затем ДНК экспрессируют в клетке, способной экспрессировать полностью человеческое антитело.

[00227] Как правило, на мышь, полученную с помощью VELOCIMMUNE®, воздействуют антигеном, представляющим интерес, и из мышей, которые экспрессируют антитела, извлекают лимфатические клетки (такие как В-клетки). Лимфатические клетки можно сливать с линией клеток миеломы с получением иммортализированных линий клеток гибридомы, и такие линии клеток гибридомы подвергают скринингу и отбирают для идентификации линий клеток гибридомы, которые продуцируют антитела, специфические в отношении антигена, представляющего интерес. ДНК, кодирующую вариабельные участки тяжелой цепи и легкой цепи, можно выделить и связать с константными участками требуемых изотипов тяжелой цепи и легкой цепи. Такой белок-антитело можно получать в клетке, такой как клетка CHO. Альтернативно ДНК, кодирующую антиген-специфические химерные антитела или вариабельные домены легкой и тяжелой цепей, можно выделить непосредственно из антиген-специфических лимфоцитов.

[00228] Исходно выделяют высокоаффинные химерные антитела с человеческим вариабельным участком и мышиным константным участком. Антитела характеризуют и отбирают по предпочтительным характеристикам, в том числе по аффинности, селективности, эпитопу и т. д., с помощью стандартных процедур, известных специалистам в данной области техники. Мышиные константные участки заменяют требуемым человеческим константным участком с получением полностью человеческого антитела, представленного в настоящем изобретении, например, дикого типа или модифицированных IgG1 или IgG4. В то время как выбранный константный участок может варьироваться в зависимости от конкретного применения, у вариабельного участка сохраняются характеристики высокоаффинного связывания с антигеном и специфичности

в отношении мишени.

[00229] Как правило, антитела, которые можно использовать в способах, характеризуются высокой аффинностью, как описано выше, при измерении связывания с антигеном как при иммобилизации на твердой фазе, так и в жидкой фазе. Мышиные константные участки заменяют требуемыми человеческими константными участками с получением полностью человеческих антител, представленных в настоящем изобретении. В то время как выбранный константный участок может варьироваться в зависимости от конкретного применения, у вариабельного участка сохраняются характеристики высокоаффинного связывания с антигеном и специфичности в отношении мишени.

[00230] В одном варианте осуществления человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-33, которые можно использовать в контексте способов, представленных в настоящем изобретении, содержат три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащихся в вариабельном участке тяжелой цепи (HCVR) с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 2. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в вариабельном участке легкой цепи (LCVR) с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 10. В другом варианте осуществления человеческое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые специфично связывают IL-4R, которые можно использовать в контексте способов, представленных в настоящем изобретении, содержат три CDR тяжелой цепи (HCDR1, HCDR2 и HCDR3), содержащихся в вариабельном участке тяжелой цепи (HCVR) с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 27. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент могут содержать три CDR легкой цепи (LCVR1, LCVR2, LCVR3), содержащиеся в вариабельном участке легкой цепи (LCVR) с аминокислотной последовательностью под SEQ ID NO: 28.

[00231] Способы и методики идентификации CDR в аминокислотных последовательностях HCVR и LCVR хорошо известны из уровня техники и могут быть использованы для идентификации CDR в определенных аминокислотных последовательностях HCVR и/или LCVR, раскрытых в данном документе. К иллюстративным общепринятым способам, которые можно применять для идентификации границ CDR, относятся, например, определение по Кабату, определение по Чотиа и определение по AbM. В целом определение по Кабату основано на вариабельности последовательностей, определение по Чотиа основано на положении участков структурных петель и определение по AbM является компромиссным решением между подходами по Кабату и Чотиа. См., например, "Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273:927-948 (1997); и Martin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272 (1989). Общедоступные базы данных также доступны для идентификации последовательностей CDR в антителе.

[00232] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельного участка тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR) под SEQ ID NO: 2 и 10.

[00233] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3) с аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO: 4/6/8/12/14/16.

[00234] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 2 и 10.

[00235] В одном варианте осуществления антитело представляет собой REGN3500, которое содержит пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 2 и 10, и содержит пару аминокислотных последовательностей тяжелой цепи/легкой цепи под SEQ ID NO: 18 и 20.

[00236] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 и LCDR3) из пар аминокислотных последовательностей вариабельного участка тяжелой и легкой цепей (HCVR/LCVR) под SEQ ID NO: 27 и 28.

[00237] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат шесть CDR (HCDR1/HCDR2/HCDR3/LCDR1/LCDR2/LCDR3) с аминокислотными последовательностями под SEQ ID NO: 21/22/23/24/25/26.

[00238] В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 27 и 28.

[00239] В одном варианте осуществления антителом является дупилумаб, который содержит пары аминокислотных последовательностей HCVR/LCVR под SEQ ID NO: 27 и 28, и содержит пару аминокислотных последовательностей тяжелой цепи/легкой цепи под SEQ ID NO: 29 и 30.

Фармацевтические композиции

[00240] Настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают введение пациенту антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R, где антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R содержатся в фармацевтической композиции. Настоящее изобретение также включает антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R для применения, где антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R содержатся в фармацевтической композиции. Фармацевтические композиции, представленные в настоящем изобретении, составляют с подходящими носителями, вспомогательными средствами и другими средствами, которые обеспечивают

подходящий перенос, доставку, переносимость и т. п. Множество подходящих составов можно найти в справочнике, известном всем химикам-фармацевтам: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Истон, Пенсильвания. Эти составы включают, например, порошки, пасты, мази, желе, воска, масла, липиды, везикулы, содержащие (катионные или анионные) липиды (такие как LIPOFECTIN™), конъюгаты ДНК, безводные абсорбционные пасты, эмульсии типа "масло в воде" и "вода в масле", эмульсии карбовакс (полиэтиленгликоли с различной молекулярной массой), полужидкие гели и полужидкие смеси, содержащие карбовакс. См. также Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J. Pharm. Sci. Technol. 52:238-311.

[00241] Доза антитела, вводимого пациенту, может варьироваться в зависимости от возраста и размерных характеристик пациента, симптомов, состояний, пути введения и т. п. Дозу обычно рассчитывают в соответствии с весом тела или площадью поверхности тела. В зависимости от тяжести состояния частоту и продолжительность лечения можно регулировать. Эффективные дозы и схемы введения фармацевтических композиций, содержащих антитела к IL-33 или антитела к IL-4R, можно определить эмпирически. Например, мониторинг течения заболевания у пациента можно осуществлять посредством периодической оценки и соответствующим образом корректировать дозу. Кроме того, межвидовой расчет дозировок можно осуществлять с помощью хорошо известных из уровня техники способов (например, Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351).

[00242] Известны различные системы доставки и их можно применять для введения фармацевтических композиций, представленных в настоящем изобретении, например, инкапсулирование в липосомы, микрочастицы, микрокапсулы, рекомбинантные клетки, способные экспрессировать мутантные вирусы, опосредованный рецепторами эндоцитоз (смотри, например, Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432). Способы введения включают без ограничения внутрикожные, внутримышечные, интраперитонеальные, внутривенные, подкожные, интраназальные, интратрахеальные, эпидуральные и пероральные пути. Композицию можно вводить любым удобным способом, например инфузией или болюсной инъекцией, абсорбцией через эпителиальные или кожно-слизистые покровы (например, слизистую ротовой полости, слизистую прямой кишки и кишечника и т. д.), и можно вводить совместно с другими биологически активными средствами.

[00243] Фармацевтическую композицию, представленную в настоящем изобретении, можно доставлять подкожно или внутривенно с помощью стандартной иглы и шприца. Кроме того, в отношении подкожной доставки при доставке фармацевтической композиции, представленной в настоящем изобретении, широко используется устройство для доставки в виде шприца-ручки (например, шприц-ручка для автоинъекции). Такое устройство для доставки в виде шприца-ручки может быть многоразового и одноразового применения. В устройстве для доставки в виде шприца-ручки многоразового применения, как правило, используется заменяемый картридж, который содержит фармацевтическую композицию. После введения всей фармацевтической композиции из картриджа и после

опустошения картриджа пустой картридж можно легко утилизировать и заменить новым картриджем, который содержит фармацевтическую композицию. Затем устройство для доставки в виде шприца-ручки можно использовать повторно. В устройстве для доставки в виде шприца-ручки одноразового применения заменяемый картридж отсутствует. Вместо этого устройство для доставки в виде шприца-ручки одноразового применения выпускают предварительно заполненным фармацевтической композицией, содержащейся в резервуаре устройства. После того как резервуар опустошается от фармацевтической композиции, устройство полностью утилизируют.

[00244] Многочисленные многоразовые устройства для доставки в виде шприца-ручки и автоинъектора используются в подкожной доставке фармацевтической композиции. Примеры включают без ограничения AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Вудсток, Великобритания), шприц-ручку DISETRONIC™ (Disetronic Medical Systems, Бургдорф, Швейцария), шприц-ручку HUMALOG MIX 75/25™, шприц-ручку HUMALOG™, шприц-ручку HUMALIN 70/30™ (Eli Lilly and Co., Индианаполис, Индиана), NOVOPEN™ I, II и III (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Копенгаген, Дания), шприц-ручку BD™ (Becton Dickinson, Франклин-Лэйкс, Нью-Джерси), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ и OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Франкфурт, Германия), при этом упомянуты лишь некоторые из них. Примеры многоразовых устройств для доставки в виде шприца-ручки, используемых при подкожном введении фармацевтической композиции, представленной в настоящем изобретении, включают без ограничения шприц-ручку SOLOSTAR™ (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) и KWIKPEN™ (Eli Lilly), автоинъектор SURECLICK™ (Amgen, Таузанд-Окс, Калифорния), PENLET™ (Haselmeier, Штутгарт, Германия), EPIPEN (Dey, L.P.) и шприц-ручку HUMIRA™ (Abbott Labs, Эббот-Парк, Иллинойс), при этом упомянуты лишь некоторые из них. Примеры устройств для доставки большого объема (например, инъекторов большого объема) включают без ограничения болюсные инъекторы, такие как, например, BD Libertas West SmartDose, Enable Injections, SteadyMed PatchPump, Sensile SenseTrial, YPsomed YpsoDose, Bespak Lapas и т. п.

[00245] Для непосредственного введения в пазухи носа фармацевтические композиции, представленные в настоящем изобретении, можно вводить с помощью, например, микрокатетера (например, эндоскопа и микрокатетера), распылителя аэрозоля, дозатора порошка, небулайзера или ингалятора. Способы включают введение нуждающемуся в этом субъекту антагониста IL-33 или антагониста IL-4R в аэрозольном составе. Например, антитела к IL-33 или IL-4R в виде аэрозоля можно вводить пациенту для лечения астмы. Аэрозольные антитела можно получать так, как это описано, например, в US 8178098, включенном в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

[00246] В определенных ситуациях фармацевтическую композицию можно доставлять в системе с контролируемым высвобождением. В одном варианте

осуществления можно использовать насос (см. Langer, выше; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201). В другом варианте осуществления можно использовать полимерные материалы; см. Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Florida. В еще одном другом варианте осуществления систему с контролируемым высвобождением можно разместить вблизи мишени для композиции, при этом требуется лишь часть системной дозы (см., например, Goodson, 1984, в Medical Applications of Controlled Release, выше, том. 2, стр. 115-138). Другие системы с контролируемым высвобождением описаны в обзоре Langer, 1990, Science 249:1527-1533.

[00247] Инъекционные препараты могут включать лекарственные формы для внутривенных, подкожных, внутрикожных и внутримышечных инъекций, капельных инфузий и т. д. Эти инъекционные препараты можно получать с помощью известных способов. Например, инъекционные препараты можно получать, например, растворением, суспендированием или эмульгированием антитела или его соли, описанных выше, в стерильной водной среде или масляной среде, обычно используемых для инъекций. Водной средой для инъекций является, например, физиологический солевой раствор, изотонический раствор, содержащий глюкозу и другие вспомогательные средства и т. д., которые можно использовать в комбинации с подходящим солюбилизирующим средством, таким как спирт (например, этанол), многоатомный спирт (например, пропиленгликоль, полиэтиленгликоль), неионогенное поверхностно-активное вещество (например, полисорбат 80, HCO-50 (полиоксиэтиленовый (50 моль) аддукт гидрогенизированного касторового масла)) и т. д. В качестве масляной среды используют, например, кунжутное масло, соевое масло и т. д., которые можно использовать в комбинации с солюбилизирующим средством, таким как бензилбензоат, бензиловый спирт и т. д. Полученной таким способом инъекционной формой обычно наполняют подходящую ампулу.

[00248] Преимущественно фармацевтические композиции для перорального или парентерального применения, описанные выше, получают в лекарственных формах в стандартной дозе, подходящей для подбора дозы активных ингредиентов. Такие лекарственные формы в стандартной дозе включают, например, таблетки, пилюли, капсулы, инъекционные формы (ампулы), суппозитории и т. д.

[00249] Иллюстративные фармацевтические композиции, содержащие антитело к IL-4R, которые могут быть использованы в настоящем изобретении, раскрыты, например, в публикации заявки на патент США № 2012/0097565.

Доза

[00250] Количество антагониста IL-33 (например, антитела к IL-33 или его антигенсвязывающего фрагмента) или антагониста IL-4R (например, антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего фрагмента), вводимого субъекту в соответствии со способами и вариантами применения, представленными в настоящем изобретении, обычно представляет собой терапевтически эффективное количество. Используемое в данном документе выражение "терапевтически эффективное количество" означает количество

антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, которое в результате приводит к одному или нескольким из следующего: (a) снижения частоты обострений аллергической астмы; (b) улучшения одного или нескольких параметров, ассоциированных с аллергической астмой (как определено в других частях данного документа), и/или (c) выявляемого улучшения в отношении одного или нескольких симптомов или признаков воспалительного состояния верхних дыхательных путей. Выражение "терапевтически эффективное количество" также включает количество антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, которое подавляет, предупреждает, снижает или задерживает прогрессирование аллергической астмы у субъекта.

[00251] В случае антитела к IL-33 или антитела к IL-4R терапевтически эффективное количество может составлять от приблизительно 0,05 мг до приблизительно 700 мг, например, приблизительно 0,05 мг, приблизительно 0,1 мг, приблизительно 1,0 мг, приблизительно 1,5 мг, приблизительно 2,0 мг, приблизительно 3,0 мг, приблизительно 5,0 мг, приблизительно 7,0 мг, приблизительно 10 мг, приблизительно 20 мг, приблизительно 30 мг, приблизительно 40 мг, приблизительно 50 мг, приблизительно 60 мг, приблизительно 70 мг, приблизительно 80 мг, приблизительно 90 мг, приблизительно 100 мг, приблизительно 110 мг, приблизительно 120 мг, приблизительно 130 мг, приблизительно 140 мг, приблизительно 150 мг, приблизительно 160 мг, приблизительно 170 мг, приблизительно 180 мг, приблизительно 190 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 210 мг, приблизительно 220 мг, приблизительно 230 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 250 мг, приблизительно 260 мг, приблизительно 270 мг, приблизительно 280 мг, приблизительно 290 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 310 мг, приблизительно 320 мг, приблизительно 330 мг, приблизительно 340 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 360 мг, приблизительно 370 мг, приблизительно 380 мг, приблизительно 390 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 410 мг, приблизительно 420 мг, приблизительно 430 мг, приблизительно 440 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 460 мг, приблизительно 470 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 490 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 510 мг, приблизительно 520 мг, приблизительно 530 мг, приблизительно 540 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 560 мг, приблизительно 570 мг, приблизительно 580 мг, приблизительно 590 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 610 мг, приблизительно 620 мг, приблизительно 630 мг, приблизительно 640 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 660 мг, приблизительно 670 мг, приблизительно 680 мг, приблизительно 690 мг или приблизительно 700 мг антитела к IL-33 или антитела к IL-4R. В определенных вариантах осуществления вводят 300 мг антитела к IL-4R.

[00252] Количество антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, содержащегося в отдельных дозах, можно выражать в миллиграммах антитела на килограмм веса тела пациента (т. е. мг/кг). Например, антагонист IL-4R можно вводить пациенту в дозе от приблизительно 0,0001 мг/кг до приблизительно 30 мг/кг веса тела пациента. В случае антитела к IL-33 или антитела к IL-4R терапевтически эффективное количество может

предусматривать количество антитела к IL-33 или антитела к IL-4R, составляющее приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 11 мг/кг, приблизительно 12 мг/кг, приблизительно 13 мг/кг, приблизительно 14 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 16 мг/кг, приблизительно 17 мг/кг, приблизительно 18 мг/кг, приблизительно 19 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 21 мг/кг, приблизительно 22 мг/кг, приблизительно 23 мг/кг, приблизительно 24 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 26 мг/кг, приблизительно 27 мг/кг, приблизительно 28 мг/кг, приблизительно 29 мг/кг или приблизительно 30 мг/кг. В определенных вариантах осуществления вводят антитело к IL-33 в количестве 10 мг/кг.

[00253] В некоторых вариантах осуществления доза антагониста IL-4R или антагониста IL-33 может варьироваться в соответствии с содержанием эозинофилов. Например, субъект может характеризоваться содержанием эозинофилов в крови (высокое содержание эозинофилов в крови), составляющим $\geq$ 300 клеток/мкл, или 300-499 клеток/мкл, или $\geq$ 500 клеток/мкл (высокое содержание эозинофилов); содержанием эозинофилов в крови, составляющим 200-299 клеток/мкл (умеренное содержание эозинофилов в крови); или содержанием эозинофилов в крови, составляющим $<$ 200 клеток/мкл (низкое содержание эозинофилов в крови).

[00254] В некоторых вариантах осуществления доза антагониста IL-4R или антагониста IL-33 может варьироваться в соответствии с уровнями периостина. Например, у субъекта могут быть высокие уровни периостина (например, $\geq$75,0 нг/мл или 74,4 нг/мл) или низкие уровни периостина (например, $<$ 75,0 нг/мл или $<$ 74,4 нг/мл).

[00255] В некоторых вариантах осуществления способы предусматривают начальную дозу антагониста IL-33, составляющую от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг, например, антагонист IL-33 в количестве приблизительно 10 мг/кг. В определенных вариантах осуществления способы предусматривают начальную дозу, составляющую от приблизительно 200 мг до приблизительно 600 мг антагониста IL-4R, например, приблизительно 600 мг антагониста IL-4R.

[00256] В определенных вариантах осуществления способы предусматривают одну или несколько поддерживающих доз от приблизительно 200 до приблизительно 300 мг антагониста IL-4R.

[00257] В определенных вариантах осуществления ICS и LABA вводят в течение всего периода введения антагониста IL-33. В определенных вариантах осуществления ICS и LABA вводят в течение всего периода введения антагониста IL-4R.

[00258] В определенных вариантах осуществления начальная доза предусматривает 600 мг антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего фрагмента, и одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в две недели.

[00259] В других вариантах осуществления начальная доза предусматривает 600 мг антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего фрагмента, и одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в четыре недели.

[00260] В других вариантах осуществления начальная доза предусматривает 600 мг антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего фрагмента, и одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в неделю.

[00261] В других вариантах осуществления начальная доза предусматривает 600 мг антитела к IL-4R или его антигенсвязывающего фрагмента, и одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в три недели.

[00262] В одном варианте осуществления возраст субъекта составляет от 6 до < 18 лет, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 2 мг/кг или 4 мг/кг.

[00263] В другом варианте осуществления возраст субъекта составляет от 12 до < 18 лет, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 2 мг/кг или 4 мг/кг.

[00264] В другом варианте осуществления возраст субъекта составляет от 6 до < 12 лет, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 2 мг/кг или 4 мг/кг.

[00265] В другом варианте осуществления возраст субъекта составляет от 2 до < 6 лет, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 2 мг/кг или 4 мг/кг.

[00266] В еще одном варианте осуществления возраст субъекта составляет < 2 лет, антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент или антитело к IL-4R или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе 2 мг/кг или 4 мг/кг.

Средства комбинированной терапии

[00267] Определенные варианты осуществления способов, представленных в настоящем изобретении, предусматривают введение субъекту одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в комбинации с антагонистом IL-33, одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в комбинации с антагонистом IL-4R или одного или нескольких дополнительных терапевтических средств в комбинации с антагонистом IL-33 и антагонистом IL-4R. Определенные варианты осуществления настоящего изобретения предусматривают антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R для применения в комбинации с дополнительными терапевтическими средствами. Определенные варианты осуществления настоящего изобретения предусматривают комбинацию антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R с дополнительными терапевтическими средствами для применения. Используемое в данном документе выражение "в комбинации с"

означает, что дополнительные терапевтические средства вводят до, после фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-4R, антагонист IL-33 или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, или параллельно с ней. В некоторых вариантах осуществления термин "в комбинации с" включает последовательное или совместное введение антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R и дополнительного терапевтического средства. Настоящее изобретение включает способы лечения астмы или ассоциированного состояния или осложнения или снижения частоты возникновения по меньшей мере одного обострения, предусматривающие введение антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R в комбинации с дополнительным терапевтическим средством для обеспечения аддитивной или синергетической активности.

[00268] Например, при введении "до" фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, дополнительное терапевтическое средство можно вводить за приблизительно 72 часа, приблизительно 60 часов, приблизительно 48 часов, приблизительно 36 часов, приблизительно 24 часа, приблизительно 12 часов, приблизительно 10 часов, приблизительно 8 часов, приблизительно 6 часов, приблизительно 4 часа, приблизительно 2 часа, приблизительно 1 час, приблизительно 30 минут, приблизительно 15 минут или приблизительно 10 минут до введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. При введении "после" фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, дополнительное терапевтическое средство можно вводить через приблизительно 10 минут, приблизительно 15 минут, приблизительно 30 минут, приблизительно 1 час, приблизительно 2 часа, приблизительно 4 часа, приблизительно 6 часов, приблизительно 8 часов, приблизительно 10 часов, приблизительно 12 часов, приблизительно 24 часа, приблизительно 36 часов, приблизительно 48 часов, приблизительно 60 часов или приблизительно 72 часа после введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Введение "параллельно" с фармацевтической композицией, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, означает, что дополнительное терапевтическое средство вводят субъекту в отдельной лекарственной форме в пределах менее чем 5 минут (до, после или в то же время) от введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, или вводят субъекту в одном комбинированном лекарственном составе, содержащем как дополнительное терапевтическое средство, так и антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R.

[00269] Дополнительное терапевтическое средство может представлять собой, например, другой антагонист IL-33, другой антагонист IL-4R, антагонист IL-1 (в том числе, например, антагонист IL-1, который изложен в патенте США № 6927044),

антагонист IL-6, антагонист IL-6R (в том числе, например, антитело к IL-6R, которое изложено в патенте США № 7582298), антагонист TNF, антагонист IL-8, антагонист IL-9, антагонист IL-17, антагонист IL-5, антагонист IgE, антагонист CD48, ингибитор лейкотриена, противогрибковое средство, NSAID, бета$_2$-агонист короткого действия (например, битолтерол, фенотерол, изопреналин, изопротенерол, левосальбутамол, левальбутерол, орципреналин, метапротеренол, пирбутерол, прокатерол, ритодрин, сальбутамол, альбутерол или тербуталин), бета$_2$-агонист длительного действия (например, сальметерол или формотерол), ингаляционный кортикостероид (например, флутиказон или будесонид), системный кортикостероид (например, для перорального или внутривенного применения), метилксантин, натрия недокромил, натрия кромолин или их комбинации. Например, в определенных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую антагонист IL-4R, антагонист IL-33 или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, вводят с комбинацией, содержащей бета$_2$-агонист длительного действия и ингаляционный кортикостероид (например, флутиказон+сальметерол [например, Advair® (GlaxoSmithKline)] или будесонид+формотерол [например, SYMBICORT® (Astra Zeneca)]).

Схемы введения

[00270] В соответствии с определенными вариантами осуществления несколько доз антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R можно вводить субъекту в течение определенного периода времени. Такие способы или варианты применения включают последовательное введение субъекту нескольких доз антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R. Используемое в данном документе выражение "последовательное введение" означает, что каждую дозу антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вводят субъекту в различный момент времени, например, в различные дни, разделенные предварительно определенным интервалом (например, часами, днями, неделями или месяцами). В данный документ включены способы или варианты применения, которые предусматривают последовательное введение пациенту однократной начальной дозы антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R с последующим введением одной или нескольких вторичных доз антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R, а также необязательно с последующим введением одной или нескольких третичных доз антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R.

[00271] Настоящее изобретение включает способы и варианты применения, предусматривающие введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R, с частотой введения дозы приблизительно четыре раза в неделю, два раза в неделю, один раз в неделю (q1w), один раз в две недели (раз в две недели или q2w), один раз в три недели (раз в три недели или q3w), один раз в четыре недели (ежемесячно или q4w), один раз в пять недель (q5w), один раз в шесть недель (q6w), один раз в восемь недель (q8w), один

раз в двенадцать недель (q12w) или с меньшей частотой при условии, что достигается терапевтический ответ. В определенных вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, может быть использовано введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в неделю. В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, может быть использовано введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в две недели (раз в две недели). В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в три недели. В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в четыре недели (ежемесячное введение дозы). В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в пять недель. В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в шесть недель. В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в восемь недель. В других вариантах осуществления, включающих введение фармацевтической композиции, содержащей антитело к IL-33 или антитело к IL-4R, можно использовать введение дозы в количестве приблизительно 75 мг, 100 мг, 150 мг, 200 мг или 300 мг один раз в двенадцать недель. В других вариантах осуществления путь введения может быть подкожным.

[00272] Термин "неделя" или "недели" относится к периоду (n x 7 дней) ± 2 дня, например, (n x 7 дней) ± 1 день или (n x 7 дней), где "n" означает количество недель, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 или больше.

[00273] Термины "начальная доза", "последующая(последующие) доза(дозы)", "вторичная(вторичные) доза(дозы)" и "третичная(третичные) доза(дозы)" относятся к временной последовательности введения антагониста IL-4R или антагониста IL-33. Таким образом, "начальная доза" представляет собой дозу, которую вводят в начале схемы лечения (также называемую "исходной дозой"); "последующие дозы" или "вторичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после введения начальной дозы; и "третичные дозы" представляют собой дозы, которые вводят после вторичных доз. Все из начальных, последующих, вторичных и третичных доз могут содержать одинаковое

количество антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, но, как правило, могут отличаться друг от друга по частоте введения. Однако в определенных вариантах осуществления количества антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, содержащиеся в начальных, последующих, вторичных и/или третичных дозах, отличаются друг от друга (например, при необходимости корректируются в сторону повышения или понижения) в ходе курса лечения. В определенных вариантах осуществления две или больше (например, 2, 3, 4 или 5 или больше) доз вводят в начале схемы лечения в виде "начальных доз" или "нагрузочных доз", затем последующие дозы вводят с меньшей частотой (например, "поддерживающие дозы"). В одном варианте осуществления поддерживающая доза может быть ниже нагрузочной или начальной дозы. Например, одну или несколько нагрузочных доз, составляющих 600 мг антагониста IL-4R, можно вводить после поддерживающих доз, составляющих от приблизительно 75 мг до приблизительно 300 мг.

[00274] В определенных вариантах осуществления начальная доза составляет от приблизительно 400 мг до приблизительно 600 мг антагониста IL-4R. В одном варианте осуществления начальная доза составляет 400 мг антагониста IL-4R. В другом варианте осуществления начальная доза составляет 600 мг антагониста IL-4R.

[00275] В определенных вариантах осуществления последующая доза составляет от приблизительно 200 мг до приблизительно 300 мг антагониста IL-4R. В одном варианте осуществления последующая доза составляет 200 мг антагониста IL-4R. В другом варианте осуществления последующая доза составляет 300 мг антагониста IL-4R.

[00276] В определенных вариантах осуществления начальная доза антагониста IL-33 составляет от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг. В одном варианте осуществления начальная доза антагониста IL-33 составляет 10 мг/кг.

[00277] В определенных вариантах осуществления последующая доза антагониста IL-33 составляет от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 15 мг/кг. В одном варианте осуществления последующая доза антагониста IL-33 составляет 5 мг/кг. В другом варианте осуществления последующая доза антагониста IL-33 составляет 10 мг/кг. В другом варианте осуществления субъекту не вводят последующую дозу (например, субъекту вводят только начальную дозу).

[00278] В определенных вариантах осуществления нагрузочная доза в два раза превышает поддерживающую дозу. В определенных вариантах осуществления начальная доза представляет собой такое же количество, как и поддерживающая доза. В определенных вариантах осуществления начальная доза является единственной вводимой дозой.

[00279] В некоторых вариантах осуществления начальная доза предусматривает 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, а одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в две недели.

[00280] В некоторых вариантах осуществления начальная доза предусматривает 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, а одна или несколько

поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в четыре недели.

[00281] В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аллергическая астма легкой степени, и начальная доза предусматривает 600 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, и одна или несколько поддерживающих доз предусматривают 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые вводят один раз в четыре недели.

[00282] В некоторых вариантах осуществления начальная доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента предусматривает 10 мг/кг, и одна или несколько поддерживающих доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента предусматривают 10 мг/кг, которые вводят один раз в две недели.

[00283] В некоторых вариантах осуществления начальная доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента предусматривает 10 мг/кг, и одна или несколько поддерживающих доз антитела или его антигенсвязывающего фрагмента предусматривают 10 мг/кг, которые вводят один раз в четыре недели.

[00284] В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется аллергическая астма легкой степени, и начальная доза антитела или его антигенсвязывающего фрагмента предусматривает 10 мг/кг.

[00285] В одном иллюстративном варианте осуществления каждую последующую, вторичную и/или третичную дозу вводят через 1-14 (например, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½ или больше) недель после непосредственно предшествующей дозы. Выражение "непосредственно предшествующая доза" означает в последовательности нескольких введений дозу антагониста IL-33 или антагониста IL-4R, которую вводят пациенту до введения ближайшей следующей дозы в последовательности без промежуточных доз.

[00286] Способы или варианты применения могут включать введение пациенту любого количества вторичных и/или третичных доз антагониста IL-33 или антагониста IL-4R. Например, в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну вторичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) вторичных доз. Аналогично в определенных вариантах осуществления пациенту вводят только одну третичную дозу. В других вариантах осуществления пациенту вводят две или более (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более) третичных доз.

[00287] В вариантах осуществления, включающих несколько вторичных доз, каждую вторичную дозу можно вводить с той же частотой, что и другие вторичные дозы. Например, каждую вторичную дозу можно вводить пациенту через 1-2 недели после непосредственно предшествующей дозы. Аналогично в вариантах осуществления, включающих несколько третичных доз, каждую третичную дозу можно вводить с той же частотой, что и остальные третичные дозы. Например, каждую третичную дозу можно вводить пациенту через 2-4 недели после непосредственно предшествующей дозы.

Альтернативно частота, с которой вторичные и/или третичные дозы вводят пациенту, может варьироваться на протяжении схемы лечения. Частота введения может изменяться врачом на протяжении курса лечения в зависимости от потребностей отдельного пациента после клинического обследования.

[00288] Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие последовательное введение пациенту антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R и дополнительного терапевтического средства для лечения астмы или ассоциированного с ней состояния. Настоящее изобретение также включает антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R для применения у пациента для лечения астмы или ассоциированного с ней состояния, где указанного пациента лечат посредством последовательного введения антагониста IL-33 или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R и дополнительного терапевтического средства. В некоторых вариантах осуществления способы или варианты применения предусматривают введение одной или нескольких доз антагониста IL-33 или одной или нескольких доз как антагониста IL-33, так и антагониста IL-4R с последующим введением одной или нескольких доз (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше) дополнительного терапевтического средства. Например, можно вводить одну или несколько доз антагониста IL-4R, составляющих от приблизительно 75 мг до приблизительно 300 мг, и/или одну или несколько доз антагониста IL-33, составляющих от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 20 мг/кг, после чего можно вводить одну или несколько доз (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше) дополнительного терапевтического средства (например, ингаляционного кортикостероида, или бета-2-агониста, или любого другого терапевтического средства, описанного в других частях данного документа) для лечения, облегчения, снижения интенсивности или уменьшения тяжести одного или нескольких симптомов астмы. В некоторых вариантах осуществления антагонист IL-33 и/или антагонист IL-33 вводят в одной или нескольких дозах (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше), что приводит к улучшению одного или нескольких ассоциированных с астмой параметров, с последующим введением второго терапевтического средства для предупреждения повторного возникновения по меньшей мере одного симптома астмы. Альтернативные варианты осуществления относятся к совместному введению антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R и дополнительного терапевтического средства. Например, вводят одну или несколько доз (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или больше) антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R, и дополнительное терапевтическое средство вводят в отдельной дозе с одинаковой или разной частотой по отношению к антагонисту IL-33 и/или антагонисту IL-4R. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство вводят до, после антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R или параллельно с ними.

[00289] В определенных вариантах осуществления антагонист IL-33 и/или антагонист IL-4R вводят один раз в две недели в течение 12 недель, 14 недель, 16 недель, 18 недель, 20 недель, 22 недель, 24 недель, 26 недель, 28 недель, 30 недель, 32 недель, 34

недель, 36 недель, 38 недель, 40 недель, 42 недель, 44 недель, 46 недель, 48 недель или больше. В других вариантах осуществления антагонист IL-33 и/или антагонист IL-4R вводят один раз в четыре недели в течение 12 недель, 16 недель, 20 недель, 24 недель, 28 недель, 32 недель, 36 недель, 40 недель, 44 недель, 48 недель или больше. В конкретных вариантах осуществления антагонист IL-33 и/или антагонист IL-4R вводят в течение по меньшей мере 24 недель.

[00290] Настоящее изобретение включает способы лечения субъекта с аллергической астмой легкой степени, предусматривающие введение субъекту нагрузочной дозы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связываются с IL-4R, и/или антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связываются с IL-33. В определенных вариантах осуществления способы или варианты применения включают введение субъекту множества поддерживающих доз антитела(антител) или его(их) антигенсвязывающего(антигенсвязывающих) фрагмента(фрагментов), где множество поддерживающих доз вводят в ходе фазы лечения.

Популяции лечения

[00291] Например, "нуждающийся в этом субъект" может включать, например, субъектов, которые до лечения характеризуются (или характеризовались) одним или несколькими параметрами, ассоциированными с астмой, такими как, например, нарушенный FEV_1 (например, менее 2,0 л), нарушенный FEF25-75%; нарушенный PEF до полудня (например, менее 400 л/мин), нарушенный PEF после полудня (например, менее 400 л/мин), показатель ACQ5, составляющий по меньшей мере 2,5, по меньшей мере 1 пробуждение в ночное время в неделю и/или показатель SNOT-22, составляющий по меньшей мере 20.

[00292] Способы, представленные в настоящем изобретении, предусматривают введение субъекту, нуждающемуся в этом, терапевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или как антагонист IL-33, так и антагонист IL-4R. Выражение "субъект, нуждающийся в этом" означает человека или животного, отличного от человека, у которых наблюдаются один или несколько симптомов или признаков астмы (например, аллергической астмы), или у которых была диагностирована астма. В различных вариантах осуществления способы можно применять для лечения астмы, характеризующейся легкой степенью, от умеренной до тяжелой степенью или тяжелой степенью, у пациентов, нуждающихся в этом, в том числе персистирующей аллергической астмы легкой степени.

[00293] В родственном варианте осуществления "субъект, нуждающийся в этом" может представлять собой субъекта, которому до получения антагониста IL-4R или как антагониста IL-33, так и антагониста IL-4R назначали SABA или комбинацию ICS/LABA, или он принимает их в настоящее время. Примеры SABA включают без ограничения битолтерол, фенотерол, изопреналин, изопротенерол, левосальбутамол, левальбутерол,

орципреналин, метапротеренол, пирбутерол, прокатерол, ритодрин, сальбутамол, альбутерол или тербуталин.

[00294] Примеры ICS включают без ограничения мометазона фуроат, будесонид и флутиказона пропионат. Примеры LABA включают без ограничения формотерол и сальметерол. Примеры терапевтических средств ICS/LABA включают без ограничения комбинированное терапевтическое средство флутиказон/сальметерол и комбинированное терапевтическое средство будесонид/формотерол. Например, настоящее изобретение включает способы, которые предусматривают введение антагониста IL-4R или как антагониста IL-33, так и антагониста IL-4R пациенту, который проходил курс SABA в течение двух или более недель непосредственно до введения антагониста IL-4R и/или антагониста IL-33 по мере необходимости (такие предшествующие средства лечения обозначены в данном документе как "средства фонового лечения"). Настоящее изобретение включает терапевтические способы, где средства фонового лечения продолжают принимать в комбинации с введением антагониста IL-4R и/или антагониста IL-33. В еще одних других вариантах осуществления количество LABA постепенно снижают до или после начала введения антагониста IL-4R и/или введения антагониста IL-33. В некоторых вариантах осуществления предусмотрены способы лечения пациентов с персистирующей астмой легкой степени в течение по меньшей мере ≥ 12 месяцев. В одном варианте осуществления пациенту с персистирующей астмой легкой степени можно вводить антагонист IL-4R и/или антагонист IL-33 в соответствии с настоящими способами.

[00295] В некоторых вариантах осуществления "нуждающимся в этом субъектом" может быть субъект с повышенными уровнями биомаркера, ассоциированного с астмой. Примеры биомаркеров, ассоциированных с астмой, включают без ограничения IgE, хемокин, регулируемый тимусом и активацией (TARC), эотаксин-3, CEA, YKL-40 и периостин. В некоторых вариантах осуществления "нуждающимся в этом субъектом" может быть субъект с содержанием эозинофилов в крови ≥ 300 клеток/мкл, 150-299 клеток/мкл или < 150 клеток/мкл. В одном варианте осуществления "нуждающимся в этом субъектом" может быть субъект с повышенным уровнем воспаления в бронхах или дыхательных путях, измеренным по фракции выдыхаемого оксида азота (FeNO).

[00296] В некоторых вариантах осуществления "нуждающийся в этом субъект" выбран из группы, состоящей из субъекта возрастом 18 лет или старше, субъекта возрастом 12 лет или старше, субъекта возрастом от 12 до 17 лет (от 12 до < 18 лет), субъекта возрастом от 6 до 11 лет (от 6 до < 12 лет) и субъекта возрастом от 2 до 5 лет (от 2 до < 6 лет). В некоторых вариантах осуществления "нуждающийся в этом субъект" выбран из группы, состоящей из взрослого человека, подростка и ребенка. В некоторых вариантах осуществления "нуждающийся в этом субъект" выбран из группы, состоящей из взрослого человека возрастом от 18 лет или старше, подростка возрастом от 12 до 17 лет (от 12 до < 18 лет), ребенка возрастом от 6 до 11 лет (от 6 до < 12 лет) и ребенка

возрастом от 2 до 5 лет (от 2 до < 6 лет). Возраст субъекта может быть менее 2 лет, например, от 12 до 23 месяцев или от 6 до 11 месяцев.

[00297] Нормальный уровень IgE у здоровых субъектов составляет менее приблизительно 100 кЕ/л (например, измеренный с помощью анализа IMMUNOCAP® [Phadia Inc., Портедж, Мичиган]). Таким образом, настоящее изобретение включает способы, предусматривающие отбор субъекта, который характеризуется повышенным уровнем IgE в сыворотке крови, при этом уровень IgE в сыворотке крови составляет более чем приблизительно 100 кЕ/л, более чем приблизительно 150 кЕ/л, более чем приблизительно 500 кЕ/л, более чем приблизительно 1000 кЕ/л, более чем приблизительно 1500 кЕ/л, более чем приблизительно 2000 кЕ/л, более чем приблизительно 2500 кЕ/л, более чем приблизительно 3000 кЕ/л, более чем приблизительно 3500 кЕ/л, более чем приблизительно 4000 кЕ/л, более чем приблизительно 4500 кЕ/л или более чем приблизительно 5000 кЕ/л, и введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R.

[00298] Уровни TARC у здоровых субъектов находятся в диапазоне от 106 нг/л до 431 нг/л, при этом среднее значение составляет приблизительно 239 нг/л. (иллюстративной аналитической системой для измерения уровня TARC является набор ELISA для количественного определения TARC, предлагаемый под каталожным № DDN00 от R&D Systems, Миннеаполис, Миннесота.) Таким образом, настоящее изобретение включает способы, предусматривающие отбор субъекта, который характеризуется повышенным уровнем TARC в сыворотке крови, при этом уровень TARC в сыворотке крови составляет более чем приблизительно 431 нг/л, более чем приблизительно 500 нг/л, более чем приблизительно 1000 нг/л, более чем приблизительно 1500 нг/л, более чем приблизительно 2000 нг/л, более чем приблизительно 2500 нг/л, более чем приблизительно 3000 нг/л, более чем приблизительно 3500 нг/л, более чем приблизительно 4000 нг/л, более чем приблизительно 4500 нг/л или более чем приблизительно 5000 нг/л, и введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей терапевтически эффективное количество антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R.

[00299] Эотаксин-3 принадлежит к группе хемокинов, высвобождаемых эпителиальными клетками дыхательных путей, который положительно регулируется цитокинами Th2 IL-4 и IL-13 (Lilly et al 1999, J. Allergy Clin. Immunol. 104: 786-790). Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R для лечения пациентов с повышенными уровнями эотаксина-3, например, составляющими более чем приблизительно 100 пг/мл, более чем приблизительно 150 пг/мл, более чем приблизительно 200 пг/мл, более чем приблизительно 300 пг/мл или более чем приблизительно 350 пг/мл. Уровни эотаксина-3 в сыворотке крови можно измерить, например, с помощью ELISA.

[00300] Фракционный выдыхаемый NO (FeNO) представляет собой биомаркер воспаления бронхов или дыхательных путей. FeNO продуцируется эпителиальными клетками дыхательных путей в ответ на воспалительные цитокины, в том числе IL-4 и IL-13 (Alwing et al 1993, Eur. Respir. J. 6: 1368-1370). Уровни FeNO у здоровых взрослых людей находятся в диапазоне от 2 до 30 частей на миллиард (ppb). Иллюстративным анализом для измерения FeNO является использование устройства NIOX Aerocrine AB, Сольна, Швеция. Оценку можно проводить до спирометрии или после воздержания от пищи в течение по меньшей мере часа. В данный документ включены способы, предусматривающие введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R пациентам с повышенными уровнями выдыхаемого NO (FeNO), например, составляющими более чем приблизительно 30 ppb, более чем приблизительно 31 ppb, более чем приблизительно 32 ppb, более чем приблизительно 33 ppb, более чем приблизительно 34 ppb или более чем приблизительно 35 ppb.

[00301] Раково-эмбриональный антиген (CEA) (также известный как молекула клеточной адгезии 5 CEA [CEACAM5]) представляет собой опухолевый маркер, который, как было обнаружено, связан с заболеваниями легкого неопухолевой природы (Marechal et al 1988, Anticancer Res. 8: 677-680). Уровни CEA в сыворотке крови можно измерить с помощью ELISA. Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R пациентам с повышенными уровнями CEA, например, составляющими более чем приблизительно 1,0 нг/мл, более чем приблизительно 1,5 нг/мл, более чем приблизительно 2,0 нг/мл, более чем приблизительно 2,5 нг/мл, более чем приблизительно 3,0 нг/мл, более чем приблизительно 4,0 нг/мл или более чем приблизительно 5,0 нг/мл.

[00302] YKL-40 (названный по своим N-концевым аминокислотам тирозину (Y), лизину (K) и лейцину (L) и своей молекулярной массе 40 кДа) представляет собой хитиназа-подобный белок, который, как обнаружено, положительно регулируется и связан с обострением астмы, IgE и эозинофилами (Tang et al 2010 Eur. Respir. J. 35: 757-760). Уровни YKL-40 в сыворотке крови измеряют, например, с помощью ELISA. Настоящее изобретение включает способы, предусматривающие введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R пациентам с повышенными уровнями YKL-40, такими как составляющими более чем приблизительно 40 нг/мл, более чем приблизительно 50 нг/мл, более чем приблизительно 100 нг/мл, более чем приблизительно 150 нг/мл, более чем приблизительно 200 нг/мл или более чем приблизительно 250 нг/мл.

[00303] Периостин представляет собой секретируемый белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с фиброзом, а его экспрессия положительно регулируется рекомбинантными IL-4 и IL-13 в культивируемых эпителиальных клетках бронхов и фибробластах бронхов (Jia et al. (2012) J. Allergy Clin. Immunol.130:647). У пациентов-людей с астмой уровни экспрессии периостина связаны с толщиной ретикулярной базальной мембраны, показателем субэпителиального фиброза. *Там же.* В данный документ включены способы, предусматривающие введение антагониста IL-33 и/или

антагониста IL-4R пациентам с повышенными уровнями периостина (например, ≥74,4 нг/мл).

[00304] Эозинофилы и нейтрофилы в индуцированной мокроте являются общепринятыми прямыми маркерами воспаления дыхательных путей (Djukanovic et al 2002, Eur. Respire. J. 37: 1S-2S). Отделение мокроты индуцируют ингаляцией гипертонического солевого раствора и подсчитывают количество клеток в соответствии со способами, известными из уровня техники, например, в соответствии с руководствами Европейского респираторного общества.

[00305] В некоторых вариантах осуществления субъектов разделяют на следующие группы: содержание эозинофилов в крови (высокое содержание эозинофилов в крови) ≥ 300 клеток/мкл (высокое содержание эозинофилов), или 300-499 клеток/мкл, или ≥ 500 клеток/мкл, содержание эозинофилов в крови 200-299 клеток/мкл (умеренное содержание эозинофилов в крови) или содержание эозинофилов в крови < 200 клеток/мкл (низкое содержание эозинофилов в крови), и введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R осуществляют в дозе или согласно схеме введения дозы на основании уровня эозинофилов.

[00306] В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется астма с "эозинофильным фенотипом", определяемая по содержанию эозинофилов в крови, составляющему ≥150 клеток/мкл, содержанию эозинофилов в крови, составляющему ≥300 клеток/мкл, или содержанию эозинофилов в крови, составляющему ≥500 клеток/мкл, и ему вводят антагонист IL-33 и/или антагонист IL-4R.

[00307] В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется астма с "периостиновым фенотипом", определяемая по высокому уровню периостина в крови, как определено в данном документе, и ему вводят антагонист IL-33 и/или антагонист IL-4R.

[00308] В некоторых вариантах осуществления "субъект, нуждающийся в этом" представляет собой субъекта, который представляет собой клинически стабильного некурящего субъекта с персистирующей аллергической астмой легкой степени, которому требуется применение только ингаляционного β2-агониста короткого действия (SABA) по мере необходимости для контроля симптомов астмы и который характеризуется аллергией к аллергену клеща домашней пыли (HDM), как определено посредством кожной скарификационной пробы.

Способы определения фармакодинамических ассоциированных с астмой параметров

[00309] Настоящее изобретение также включает способы определения одного или нескольких фармакодинамических параметров, ассоциированных с астмой, у субъекта, нуждающегося в этом, в результате введения фармацевтической композиции, содержащей антагонист IL-33, антагонист IL-4R или антагонист IL-33 и антагонист IL-4R. Снижение частоты обострения аллергической астмы (как описано выше) или улучшение одного или нескольких ассоциированных с астмой параметров (как описано выше) может быть связано с улучшением одного или нескольких фармакодинамических параметров,

ассоциированных с астмой; однако такая связь необязательно наблюдается во всех случаях.

[00310] Примеры "фармакодинамических параметров, ассоциированных с астмой" включают, например, следующие: (a) уровни экспрессии биомаркеров; (b) анализ сывороточных белков и РНК; (c) уровни эозинофилов и нейтрофилов в индуцированной мокроте; (d) выдыхаемый оксид азота (FeNO) и (e) содержание эозинофилов в крови. "Улучшение фармакодинамического параметра, ассоциированного с астмой" означает, например, снижение от исходного уровня одного или нескольких биомаркеров, таких как периостин, TARC, эотаксин-3 или IgE, снижение содержания эозинофилов или нейтрофилов в мокроте, FeNO, периостина или содержания эозинофилов в крови. Используемый в данном документе термин "исходный уровень" по отношению к фармакодинамическому параметру, ассоциированному с астмой, означает числовую величину фармакодинамического параметра, ассоциированного с астмой, для пациента до или в течение всего периода введения фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[00311] Для оценки фармакодинамического параметра, ассоциированного с астмой, параметр измеряют количественно на исходном уровне и во временной точке после введения фармацевтической композиции. Например, фармакодинамический параметр, ассоциированный с астмой, можно измерять в день 1, день 2, день 3, день 4, день 5, день 6, день 7, день 8, день 9, день 10, день 11, день 12, день 14 или на неделе 3, неделе 4, неделе 5, неделе 6, неделе 7, неделе 8, неделе 9, неделе 10, неделе 11, неделе 12, неделе 13, неделе 14, неделе 15, неделе 16, неделе 17, неделе 18, неделе 19, неделе 20, неделе 21, неделе 22, неделе 23, неделе 24 или в течение более длительного после начального лечения фармацевтической композицией. Разница между величиной параметра в определенной временной точке после начала лечения и величиной параметра на исходном уровне используется для установления того, произошло ли изменение, такое как "улучшение" фармакодинамического параметра, ассоциированного с астмой (например, повышение или снижение в зависимости от ситуации, в зависимости от конкретного измеряемого параметра).

[00312] В определенных вариантах осуществления введение пациенту антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-4R вызывает изменение, такое как снижение или повышение экспрессии определенного биомаркера. Биомаркеры, ассоциированные с астмой, включают без ограничения следующие: (a) суммарный IgE; (b) хемокин, регулируемый тимусом и активацией (TARC); (c) YKL-40; (d) раково-эмбриональный антиген в сыворотке крови; (e) эотаксин-3 в плазме крови и (f) периостин в сыворотке крови. Например, введение антагониста IL-33 и/или антагониста IL-4R пациенту с астмой может вызывать одно или несколько из снижения уровней TARC или эотаксина-3 или снижения уровней суммарного IgE в сыворотке крови. Снижение может быть выявлено на неделе 1, неделе 2, неделе 3, неделе 4, неделе 5 или позже после введения антагониста IL-33, антагониста IL-4R или антагониста IL-33 и антагониста IL-

4R. Экспрессию биомаркеров можно определить способами, известными в данной области техники. Например, уровни белка можно измерить с помощью ELISA (твердофазного иммуноферментного анализа). Уровни РНК можно измерить, например, с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-PCR).

[00313] Экспрессию биомаркеров, описанных выше, можно определить по выявлению белка или РНК в сыворотке крови. Образцы сыворотки крови также можно использовать для мониторинга дополнительных биомаркеров, представляющих собой белок или РНК, связанных с ответом на лечение антагонистом IL-33 и/или антагонистом IL-4R, передачей сигнала IL-4/IL-13, астмой, атопией или эозинофильными заболеваниями (например, посредством измерения растворимых IL-4Rα, IL-4, IL-13, периостина и т. п.). В некоторых вариантах осуществления образцы РНК используют для определения уровней РНК (негенетического анализа), например, уровней РНК биомаркеров; и в других вариантах осуществления образцы РНК используют для секвенирования транскриптома (например, генетического анализа).

ПРИМЕР

[00314] Следующий пример приведен для того, чтобы обеспечить специалистов в данной области техники полным раскрытием и описанием получения и применения способов и композиций, описанных в настоящем изобретении, и он не предназначен для ограничения объема того, что авторы рассматривают в качестве своего изобретения. Были приложены усилия для обеспечения точности в отношении используемых чисел (например, количеств, температуры и т. п.), однако необходимо учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения. Если не указано иное, то части являются частями по весу, молекулярная масса является средней молекулярной массой, температура представлена в градусах Цельсия, а давление является атмосферным или близким к атмосферному.

[00315] Иллюстративный антагонист IL-33, используемый в следующем примере, представляет собой человеческое антитело к IL-33 под названием SAR440340, которое также упоминается под названием REGN3500 или под своим международным непатентованным названием (INN) итепекимаб. Иллюстративный антагонист IL-4R, используемые в следующем примере, представляет собой человеческое антитело к IL-4R под названием дупилумаб (т. е. DUPIXENT®).

Пример 1. Рандомизированное плацебо-контролируемое исследование в параллельных группах для оценки эффектов от REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении маркеров воспаления после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном у

пациентов с аллергической астмой

Обзор и обоснование исследования

[00316] REGN3500 и дупилумаб представляют собой полностью человеческие моноклональные антитела (mAb). Дупилумаб представляет собой mAb к альфа-субъединице рецептора интерлейкина-4 (IL-4Rα). REGN3500 целенаправленно

воздействует на IL-33, являющийся провоспалительным цитокином, который инициирует и усиливает врожденные и приобретенные сигнальные каскады воспаления (Cayrol et al. IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. Curr Opin Immunol. 2014. 31:31-37.)

[00317] Данное исследование предназначено для оценки эффектов от лечения с применением REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба по сравнению с плацебо, а также эффекта от применения ингаляционных кортикостероидов в отношении сигнальных путей аллергического воспаления, запускаемых посредством провокационной пробы с бронхиальным аллергеном (BAC) с ингаляцией клеща домашней пыли (HDM), у чувствительных к HDM взрослых пациентов с астмой легкой степени тяжести. Модель ингаляционной BAC эффективно использовалась в разработке противоастматических лекарственных средств в течение 30 лет (Diamant et al. Inhaled allergen bronchoprovocation tests. J Allergy Clin Immunol. 2013. 132:1045-1055 e1046, Fahy et al. Analysis of cellular and biochemical constituents of induced sputum after allergen challenge: a method for studying allergic airway inflammation. J Allergy Clin Immunol. 1994. 93:1031-1039, Inman et al. Dose-dependent effects of inhaled mometasone furoate on airway function and inflammation after allergen inhalation challenge. Am J Respir Crit Care Med. 2001.164:569-574.)

[00318] Провокационная проба с бронхиальным аллергеном включает вдыхание пациентом аллергена, что приводит к двухфазной ответной реакции дыхательных путей, которая характеризуется ранним (от 30 минут до 2 часов после провокационной пробы с аллергеном) и поздним (от примерно 3 до 8 часов после провокационной пробы с аллергеном) снижением объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV1). Данная модель облегчает оценку аллергической воспалительной реакции посредством измерения изменений в клеточном составе, продуцировании цитокинов и мРНК-сигнатур воспаления в смывах, полученных посредством бронхоальвеолярного лаважа, бронхиальных биоптатах или индуцированной мокроте (Zuiker et al. Sputum RNA signature in allergic asthmatics following allergen bronchoprovocation test. Eur Clin Respir J. 2016. 3:31324.) На **фиг. 7** показано, что в данном исследовании используют модель BAC для оценки индуцированных лечением изменений при аллергическом воспалении, измеряемых в индуцированной мокроте, при этом особое внимание уделяется изменениям выбранных целевых сигнатур мРНК.

[00319] Ключевой особенностью дизайна данного исследования является необходимость осуществления BAC перед лечением для обеспечения возможности сравнения эффектов в отношении BAC у одного и того же пациента до и после лечения.

[00320] Целью данного исследования является оценка эффектов от REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении молекулярных механизмов, вовлеченных в аллергическое воспаление дыхательных путей пациента с астмой, которые, как считают, вносят вклад в патогенез астмы. Для достижения указанной цели в данном исследовании исследуют экспрессию выбранных маркеров воспаления в

мокроте пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести, индуцированной контролируемой BAC с использованием HDM. Сравнение эффектов лечения от применения REGN3500, дупилумаба или комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении изменений экспрессии молекул воспалительного сигнального пути в мокроте обеспечивает данными о том, обладает ли комбинация REGN3500 и дупилумаба дополнительным эффектом.

Цели

[00321] Первичная цель заключается в оценке эффектов от REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба по сравнению с плацебо в отношении изменений сигнатур экспрессии генов воспаления в мокроте, индуцированной после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном (BAC), у взрослых с аллергической астмой легкой степени тяжести на 4 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге.

[00322] Вторичные цели исследования заключались в оценке безопасности и переносимости ограниченных доз REGN3500 и комбинации REGN3500 и дупилумаба у взрослых пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести, которым проводили BAC; оценке фармакокинетического (PK) профиля REGN3500 у взрослых пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести, которым проводили BAC; оценке иммуногенности REGN3500 и дупилумаба у взрослых пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести, которым проводили последовательные BAC; оценке целевой активности REGN3500 посредством измерения уровней общего интерлейкина-33 (IL-33) в сыворотке крови у взрослых пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести, которым проводили последовательные BAC; и оценке эффекта от флутиказона в отношении изменений сигнатур экспрессии генов воспаления в мокроте, индуцированной после BAC, у взрослых с аллергической астмой легкой степени тяжести на 4 день после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге.

[00323] Поисковые цели исследования у взрослых пациентов с аллергической астмой легкой степени тяжести заключались в оценке эффектов от REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба и плацебо в отношении изменений сигнатур экспрессии генов воспаления в мокроте, индуцированной после BAC, на 8 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге; оценке эффектов от REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба и плацебо в отношении изменений белков воспалительных цитокинов в мокроте, индуцированной после BAC, на 4 неделе и 8 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге; оценке потенциальных эффектов от REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба и плацебо в отношении изменений маркеров активации сигнального пути IL-33 в сыворотке крови после BAC на 4 неделе и 8 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге; оценке эффектов от REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба и плацебо в отношении параметров функций

легких, в том числе изменений FEV1 до BAC и фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе (FeNO), а также изменения площади под кривой (AUC) FEV1 во временных точках от 0 до 2 часов и от 3 до 8 часов после BAC на 4 неделе и 8 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге; и сравнении эффекта от REGN3500, дупилумаба или комбинации REGN3500 и дупилумаба с таким эффектом от ингаляционного введения флутиказона пропионата в отношении изменений сигнатур экспрессии генов в мокроте, цитокинов в мокроте, биомаркеров активности IL-33 и IL-4R в сыворотке крови, а также в отношении изменений FeNO и AUC FEV1 после BAC на 4 неделе и 8 неделе после начала лечения по сравнению с такими показателями, полученными при скрининге.

Дизайн исследования

[00324] В ходе данного исследования модель ингаляционной BAC используют для оценки влияния REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба на воспаление дыхательных путей. Модель ингаляционной BAC представляет собой стандартную и воспроизводимую модель индуцированного аллергического воспаления дыхательных путей, которая обеспечивает возможность оценки эффектов от лечения лекарственным средством на функциональном, клеточном и молекулярном уровне. В прошлых исследованиях было продемонстрировано, что данную модель можно использовать для оценки ответа на лечение посредством измерения уровня мРНК генов воспаления в индуцированной мокроте (Zuiker et al. Sputum RNA signature in allergic asthmatics following allergen bronchoprovocation test. Eur Clin Respir J. 2016. 3:31324.) В ряде опубликованных отчетов было продемонстрировано, что воспалительная ответная реакция после BAC приводит к повышению уровня цитокинов, связанных с воспалением 2 типа, как в альвеолярной жидкости бронхов, так и в мокроте (Erin et al. Optimized dialysis and protease inhibition of sputum dithiothreitol supernatants. Am J Respir Crit Care Med. 2008. 177:132-141, Huang et al. IL-13 expression at the sites of allergen challenge in patients with asthma. J Immunol. 1995. 155:2688-2694.) Гипотеза настоящего исследования заключается в том, что резкое повышение уровней цитокинов, ассоциированных с воспалением 2 типа, в модели BAC обеспечивает возможность оценки эффектов от REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении данного аллергического воспаления дыхательных путей.

[00325] Данное исследование представляет собой исследование из 2 частей, состоящее из рандомизированного, двойного слепого, плацебо-контролируемого компонента (1 части) и открытого компонента (2 части).

[00326] Как показано на **фиг. 1**, в 1 части исследования пациентов рандомизируют для получения REGN3500 (внутривенно (в/в), однократная доза), дупилумаба (подкожно (п/к), 2 дозы с интервалом в 14 дней), комбинации REGN3500 (в/в, однократная доза) и дупилумаба (п/к, 2 дозы с интервалом в 14 дней) или плацебо. Включенных в исследование пациентов подвергают BAC в ходе скринингового периода и на 4 и 8 неделях после введения первых доз исследуемого (исследуемых) лекарственного

(лекарственных) средства (средств). Эффекты от исследуемых лекарственных средств в отношении BAC-индуцированного воспаления легких оценивают посредством измерения уровней молекулярных сигнатур в мокроте (мРНК и белков). Уровни молекулярных сигнатур в мокроте оценивают до BAC (исходный уровень) и после BAC (после BAC) при скрининге и на 4 и 8 неделях после начала лечения (**фиг. 1**). BAC-индуцированную разницу уровней сигнатур в мокроте до и после BAC оценивают при скрининге (скрининговое изменение) и будут оценивать на 4 и 8 неделях после лечения (изменение на неделе 4 и изменение на неделе 8). Поскольку как REGN3500, так и дупилумаб демонстрируют длинный период полужизни, в ходе настоящего исследования изменение BAC оценивают как на 4 неделе, так и на 8 неделе для мониторинга продолжительности потенциального влияния лечения исследуемым лекарственным средством на воспаление дыхательных путей. Эффект лечения исследуемым лекарственным средством в отношении генных сигнатур в индуцированной мокроте оценивают по разнице между BAC-индуцированным скрининговым изменением и BAC-индуцированным изменением на 4 неделе (изменением от скрининга до 4 недели) и разницы между BAC-индуцированным скрининговым изменением и BAC-индуцированным изменением на 8 неделе (изменением от скрининга до 8 недели).

[00327] Модель BAC использовали в разработке эффективных высокоактивных противовоспалительных средств для лечения астмы, таких как ингаляционные кортикостероиды (Hansel et al. The allergen challenge. Clin Exp Allergy. 2002. 32:162-167, Inman et al. Dose-dependent effects of inhaled mometasone furoate on airway function and inflammation after allergen inhalation challenge. Am J Respir Crit Care Med. 2001. 164:569-574 и Ravensberg et al. Validated safety predictions of airway responses to house dust mite in asthma. Clin Exp Allergy. 2007. 37:100-107.) Хотя типичная конечная точка для данных исследований представляет собой изменение FEV1 поздней фазы (снижение FEV1, обычно наблюдаемое в течение периода от 4 до 8 часов после воздействия аллергена), модель также демонстрировала надлежащую воспроизводимость от испытания к испытанию уровней маркеров воспаления, измеряемых в дыхательных путях после BAC (Fahy et al. Analysis of cellular and biochemical constituents of induced sputum after allergen challenge: a method for studying allergic airway inflammation. J Allergy Clin Immunol. 1994. 93:1031-1039, Inman et al. Dose-dependent effects of inhaled mometasone furoate on airway function and inflammation after allergen inhalation challenge. Am J Respir Crit Care Med. 2001. 164:569-574 и Zuiker et al. Kinetics of TH2 biomarkers in sputum of asthmatics following inhaled allergen. Eur Clin Respir J. 2015. 2.)

[00328] Для улучшения возможности интерпретации результатов при небольших количествах пациентов каждому пациенту проводили BAC в ходе скринингового периода. Для включения в исследование каждый пациент должен продемонстрировать как раннее снижение FEV1 (от 0 до 30 минут после BAC), так и позднее снижение FEV1 (от 3 до 8 часов после BAC). В прошлых исследованиях было продемонстрировано, что пациенты, которые характеризуются как ранним, так и поздним снижением FEV1, имеют более

высокие уровни цитокинов, связанных с воспалением 2 типа, в поздней фазе, чем пациенты без снижения FEV1 в данный период. Вторую BAC в 1 части исследования осуществляют через примерно 4 недели после введения первой дозы исследуемого средства для лечения. Проведение третьей BAC предложено через примерно 8 недель после начала лечения для обеспечения возможности оценки продолжительности эффекта. Эти данные обеспечивают возможность получения PK/фармакодинамической (PD) модели эффектов от REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении дыхательных путей.

[00329] Ожидается, что данные, полученные от 6 пациентов, будут обеспечивать достаточную статистическую мощность для обнаружения эффекта от лечения. Из-за потенциальных технических трудностей при успешном завершении всех процедур в каждую группу лечения будут включены не более 8 пациентов. Ожидается, что данные, полученные от 6 пациентов на группу, обеспечат > 80% мощности для обнаружения величины эффекта от лечения, составляющей от 2,5- до 5-кратного установленного уровня экспрессии мРНК цитокина.

[00330] На **фиг. 3** показано, что во 2 части данного исследования пациентов подвергают скрининговой BAC, после которой следует короткий курс немаскированного ингаляционного введения флутиказона пропионата в высокой дозе. Вторую BAC проводят через 4 дня после начала лечения с применением ингаляционного введения флутиказона пропионата. Данная часть исследования служит в качестве положительного контроля для подтверждения эффектов от кортикостероидов, о которых сообщалось ранее, в отношении сигнатуры мРНК аллергического воспаления (Zuiker et al. Sputum RNA signature in allergic asthmatics following allergen bronchoprovocation test. Eur Clin Respir J. 2016. 3:31324) и обеспечения препарата сравнения для оценки эффектов от исследуемых лекарственных средств в отношении аллерген-индуцированного воспаления.

[00331] Представлено исследование фазы 1b с 2 отдельными частями. Длительность 1 части составляет 42 недели за исключением скринингового периода. Длительность 2 части составляет 2 недели за исключением скринингового периода. 1 часть и 2 часть выполняют одновременно.

[00332] 1 часть данного исследования представляет собой рандомизированное, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование в параллельных группах с двумя плацебо у пациентов с персистирующей аллергической астмой легкой степени тяжести, предназначенное для оценки эффекта от REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба или плацебо в отношении воспаления легких (что измеряют по уровням мРНК цитокинов в мокроте) и показателей оценки воспалительной ответной реакции поздней фазы на BAC с применением HDM в дыхательных путях. Пациентов рандомизировали в одну из следующих групп лечения: REGN3500 (однократная доза в/в); дупилумаб (2 дозы п/к, Q2W); комбинация REGN3500 (однократная доза в/в) и дупилумаба (2 дозы п/к, Q2W) и плацебо (однократная доза в/в и 2 дозы п/к, Q2W).

[00333] Оценивают эффект от лечения в отношении воспаления легких и

показателей воспалительной ответной реакции поздней фазы на BAC с применением HDM в дыхательных путях. За пациентами осуществляют наблюдение с дня 58 до визита окончания исследования в день 293.

[00334] 2 часть включает открытое лечение с применением короткого курса ингаляционного флутиказона пропионата. Пациентам вводят 8 доз ингаляционного флутиказона пропионата в течение 4 дней, и за ними осуществляют наблюдение до визита окончания исследования в день 15. Эффекты от флутиказона пропионата в отношении мРНК цитокинов в мокроте и показателей ответной реакции поздней фазы в дыхательных путях используют в качестве положительного контроля для сравнения с указанными показателями в 1 части.

[00335] Переменные значения антител к лекарственному средству включают статус (положительный или отрицательный) и титр в соответствии со следующим перечнем: общее число пациентов с отрицательным результатом анализа ADA во всех анализируемых временных точках, общее число пациентов с положительным результатом анализа ADA во всех анализируемых временных точках, общее число пациентов с ранее существовавшей иммунореактивностью, общее число пациентов с возникшей в ходе лечения ответом в виде ADA, общее число пациентов с усиленным лечением ответом в виде ADA, а также категории титров: низкий (титр < 1000), умеренный ($1000 \leq$ титр ≤ 10000) и высокий (титр > 10000).

Скрининг

[00336] Все пациенты, включенные в данное исследование, представляют собой клинически стабильных некурящих пациентов с персистирующей аллергической астмой легкой степени тяжести, требующие применения только ингаляционного β2-агониста короткого действия при необходимости для контроля симптомов астмы и которые характеризуются атопией в отношении HDM, что определено посредством прик-теста.

[00337] В ходе скринингового периода (со дня -28 до дня -1) пациентам для потенциального включения в исследование проводят подготовительные процедуры. У пациентов, которые удовлетворяют всем другим критериям включения, проводят провокационную пробу с ингаляцией HDM для получения оценки аллергической реакции в дыхательных путях и определения пригодности для включения в исследование. Требуется, чтобы в ходе скринингового периода (со дня -28 до дня -1) пациенты демонстрировали аллергическую реакцию как ранней, так и поздней фазы на протяжении скрининговой BAC.

[00338] От пациентов требуется переносимость индуцирования мокроты и обеспечение получения подходящего образца мокроты в ходе скрининга. Определение подходящего образца мокроты будет предоставлено в руководстве по проведению исследования. Пациенты, которые не в состоянии обеспечить получение подходящего образца мокроты до проведения BAC в ходе процесса скрининга, могут быть подвергнуты повторному скринингу в отношении индуцирования мокроты в случае одобрения исследователем. Пациенты, которые не в состоянии обеспечить получение подходящего

образца мокроты после BAC, будут считаться неподходящими для включения в исследование.

[00339] Дозу аллергена, требующуюся для демонстрации соответствующей EAR, для отдельного пациента в ходе скрининговой провокационной пробы используют для расчета схемы введения дозы аллергена для данного конкретного пациента при BAC после лечения (день 29 и день 57 после начала лечения для 1 части и день 4 после начала лечения для 2 части). Для включения в исследование пациенты должны демонстрировать подходящую LAR, определяемую как снижение FEV1, составляющее 15% или выше, от уровня FEV1 до проведения BAC (однако у пациента не должно наблюдаться снижение FEV1 ниже 25% от прогнозируемого значения или <1,4 л). Процедуры в ходе скрининговой BAC аналогичны процедурам, выполняемым в фазе лечения в ходе испытания.

1 часть исследования

[00340] На **фиг. 2** показано, что пациентов, соответствующих критериям включения (в общей сложности не более 32), рандомизируют в соотношении 1:1:1:1 для получения REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба или плацебо. Поскольку для групп лечения в данном исследовании предусмотрена первая клиническая доза комбинации REGN3500 и дупилумаба, 1 часть выполняют в виде 2 фаз для решения любых потенциальных проблем для безопасности. Первых 8 пациентов рандомизируют в соотношении 1:1:1:1 для получения исследуемого лекарственного средства. В день 1 пациентам в группе REGN3500 вводят в/в 10 мг/кг REGN3500 с последующим п/к введением плацебо, соответствующего дупилумабу, пациентам в группе дупилумаба вводят в/в плацебо, соответствующее REGN3500, с последующим п/к введением нагрузочной дозы дупилумаба 600 мг (2 инъекции по 300 мг), пациентам в группе комбинации REGN3500 и дупилумаба будут вводить в/в 10 мг/кг REGN3500 с последующим п/к введением 600 мг дупилумаба (2 инъекции по 300 мг), и пациентам в группе плацебо будут вводить в/в плацебо, соответствующее REGN3500, с последующими 2 п/к инъекциями плацебо, соответствующего дупилумабу.

[00341] В день 15 (2 неделя) пациентам, распределенным в группу дупилумаба или группу комбинации REGN3500 и дупилумаба, вводят п/к дупилумаб в дозе 300 мг и всем другим пациентам вводят п/к плацебо, соответствующее дупилумабу.

[00342] У этих первых 8 пациентов завершают оценку безопасности до дня 24 (визит 7) исследования. Комитет по надзору за безопасностью компании Regeneron (RSOC) будет выполнять неослепленный обзор данных по безопасности на основании указанных данных. Оставшиеся примерно 24 пациента включают в исследование, как только RSOC выполнит обзор данных по безопасности и одобрит дополнительное включение. Этих оставшихся пациентов рандомизируют и они получают лечение согласно схеме, описанной для первых 8 пациентов.

[00343] Все включенные в исследование пациенты возвращаются в клинику в день 24 ± 2 дня и в день 52 ±2 дня для отбора образца индуцированной мокроты на исходном

уровне. Если невозможно получить подходящий образец мокроты, пациенты могут вернуться через 72 часа для второй попытки получения образца мокроты на исходном уровень. Отбор мокроты, предшествующий BAC, должен быть осуществлен за по меньшей мере 72 часа до проведения BAC. Через семьдесят два часа после отбора образца индуцированной мокроты на исходном уровне в день 29 ± 2 дня и в день 57 ± 2 дня соответственно пациенты возвращаются в клинику и им выполняют измерения FEV1 и FeNO до проведения BAC с применением HDM. Индуцирование мокроты выполняют через 8 часов и 24 часа после ингаляционной BAC в ходе визитов как в день 29 ± 2 дня (неделя 4), так и в день 57 ± 2 дня (неделя 8). Мониторинг пациентов в исследовательском центре осуществляют по меньшей мере в течение 8 часов после BAC, и им разрешают покидать исследовательский центр, если врач-исследователь считает их состояние стабильным. Период отмывки между BAC будет составлять по меньшей мере 21 день.

[00344] Будут выполнять измерение легочной функции, которую оценивают посредством спирометрии, по уровню мРНК в мокроте, уровню цитокинов в мокроте, FeNO и дополнительным маркерам активности IL-33 и IL-4R в сыворотке крови, что подробно описано в расписании мероприятий, показанном в **таблице 1** ниже. За пациентами будут осуществлять наблюдение после BAC в ходе запланированных визитов до визита окончания исследования (день 293).

Таблица 1. Расписание мероприятий для 1 части

	Скрининг				**Лечение**		**После лечения**										
		Индуцированная мокрота и BAC					**Индуцированная мокрота и BAC**				**Индуцированная мокрота и BAC**						**EOS/ ET***
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**	**Визит 10**	**Визит 11**	**Визит 12**	**Визит 13**	**Визит 14**	**Визит 15**	**Визит 16**	**Визит 17**
День исследования (± дни временного окна)	**От -28 до -1**				**1**	**15 (±2)**	**24 (±2)**	**29 (±2)**	**30 (±2)**	**43 (±2)**	**52 (±2)**	**57 (±2)**	**58 (±2)**	**86 (±2)**	**113 (±2)**	**203 (±2)**	**293 (±2)**
Административные																	
Информированное согласие	X[a]																
Согласие на участие в дополнительном исследовании по изучению геномики[a]	X[b]																
Медицинский анамнез	X																
Демографические показатели	X																
Критерии включения и исключения	X				X												
Исследуемое лекарственное средство																	
Рандомизация					X												
Введение исследуемого лекарственного средства[c]					X[e2.f2.gl.m]	X[e2.f2.gl]											
Лабораторные анализы (все образцы для исходного уровня, собранные до введения дозы)																	
Гепатит (HBsAg, HBcAb, HCV) и скрининг в отношении HIV, анализ крови на ТВ[d.e1.f1]	X																
Скрининговый анализ мочи на наличие наркотических веществ и проба на алкоголь в выдыхаемом воздухе (в соответствии с SOP исследовательского центра)	X				X												

	Скрининг				Лечение		После лечения										
		Индуцированная мокрота и ВАС					Индуцированная мокрота и ВАС				Индуцированная мокрота и ВАС						EOS/ ET*
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**	**Визит 10**	**Визит 11**	**Визит 12**	**Визит 13**	**Визит 14**	**Визит 15**	**Визит 16**	**Визит 17**
День исследования (± дни временного окна)	**От -28 до -1**				**1**	**15 (±2)**	**24 (±2)**	**29 (±2)**	**30 (±2)**	**43 (±2)**	**52 (±2)**	**57 (±2)**	**58 (±2)**	**86 (±2)**	**113 (±2)**	**203 (±2)**	**293 (±2)**
Административные																	
Гематологическая панель[d,e1,f1]	X		X		X[e1,f2]	X[e2,f2]		X				X		X	X	X	X
Лабораторный биохимический анализ (в том числе на ионизированный кальций)[d,e1,f1]	X		X		X[e2,f2]	X[e2,f2]		X				X		X	X	X	X
Интактный паратиреоидный гормон (iPTH)[d,e1,f1]	X				X[e2,f2]			X				X			X	X	X
25-Гидроксивитамин D[d,e1,f1]	X				X[e2,f2]			X				X			X	X	X
Анализ сыворотки крови на беременность[d,e1]	X														X	X	X
Анализ мочи на беременность	X		X		X	X		X				X			X	X	X
FSH (только аменорейные женщины)[d,e1]	X																
Анализ мочи	X				X			X				X			X	X	X
Процедуры клинической оценки																	
Процедуры клинической оценки[c]	X[e1]	X	X[e1]	X	X[e2]	X[e2]	X[e1]	X[e1]	X	X	X	X[e1]	X	X[e1]	X[e1]	X[e1]	X[e1]
Физикальное обследование	X														X	X	X
Вес	X				X			X				X		X	X	X	X
Рост	X																

	Скрининг				Лечение		После лечения										
		Индуцированная мокрота и BAC					Индуцированная мокрота и BAC				Индуцированная мокрота и BAC						EOS/ET*
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**	**Визит 10**	**Визит 11**	**Визит 12**	**Визит 13**	**Визит 14**	**Визит 15**	**Визит 16**	**Визит 17**
День исследования (± дни временного окна)	**От -28 до -1**				**1**	**15 (±2)**	**24 (±2)**	**29 (±2)**	**30 (±2)**	**43 (±2)**	**52 (±2)**	**57 (±2)**	**58 (±2)**	**86 (±2)**	**113 (±2)**	**203 (±2)**	**293 (±2)**
Административные																	
Электрокардиография[f,f1]	X		X		X[f2]	X[f2]		X				X					X
Нежелательные явления	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Сопутствующие лекарственные препараты	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Фармакокинетические параметры (PK) и антитела к лекарственному средству (ADA)																	
Образец сыворотки крови для определения концентрации лекарственного средства REGN3500[d,g]					X[g1]	X[g1]		X		X		X		X	X	X	X
Образец сыворотки крови для определения концентрации лекарственного средства дупилумаб[d,g]					X[g1]	X[g1]		X		X		X		X	X		
ADA (антитела к REGN3500)[d,g]					X[g1]												X
Образец для определения ADA (антител к дупилумабу)[d,g]					X[g1]										X		
Процедуры																	
Кожная скарификационная проба с HDM (стандартная и тест на чувствительность кожи)	X																
Спирометрия в клинических условиях[h]	X[i1]	X	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1]	X	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]	X	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]	X[i1,m]
FeNO[i,i1]	X[i1]		X[i2,i3]	X[i2,i3]	X	X		X[i2,i3]	X[i2,i3]	X		X[i2,i3]	X[i2,i3]	X	X	X	X

	Скрининг				Лечение		После лечения										
		Индуцированная мокрота и BAC					Индуцированная мокрота и BAC				Индуцированная мокрота и BAC						EOS/ET*
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**	**Визит 10**	**Визит 11**	**Визит 12**	**Визит 13**	**Визит 14**	**Визит 15**	**Визит 16**	**Визит 17**
День исследования (± дни временного окна)	**От -28 до -1**				**1**	**15 (±2)**	**24 (±2)**	**29 (±2)**	**30 (±2)**	**43 (±2)**	**52 (±2)**	**57 (±2)**	**58 (±2)**	**86 (±2)**	**113 (±2)**	**203 (±2)**	**293 (±2)**
Административные																	
Провокационная проба с метахолином	X^{i1}																
Индуцированная мокрота[j]		X^{j1}	$X^{i2,j2,m}$	$X^{i2,j2,m}$			X^{j1}	$X^{i2,j2,m}$	$X^{i2,j2,m}$		X^{j1}	$X^{i2,j2,m}$	$X^{i2,j2,m}$				
BAC с HDM[k]			$X^{i3,j2,m,n1}$					$X^{i3,j2,m,n1}$				$X^{i3,j2,m,n1}$					
Сбор образцов и определение биомаркеров[d]																	
ДНК (необязательно)[d,l]					X												
Образец для определения РНК в цельной крови (необязательно)[d,m]			X	X	X			X	X			X	X				
SST2, кальцитонин, MMP12, TARC, PARC, эотаксин-3 в сыворотке крови и плазме крови[d,n]	X		X^{n1}	X^{n1}	X	X		X^{n1}	X^{n2}			X^{n1}	X^{n2}	X	X	X	X
Общий уровень IL-33 в сыворотке крови[d,n]	X		X^{n1}	X^{n1}	X	X		X^{n1}	X^{n2}	X		X^{n1}	X^{n2}	X	X	X	X
Образцы сыворотки крови и плазмы крови для будущей биомедицинской научно-исследовательской работы[d]	X				X			X				X		X	X	X	X

*EOS/ET: окончание исследования/ досрочное завершение; BAC: провокационная проба с бронхиальным аллергеном; HDM: клещ домашней пыли

Сноски для таблицы 1 с расписанием мероприятий

a. Информированное согласие может быть получено в ходе отдельного визита до скринингового периода.

b. Пациенты должны подписать отдельную форму информированного согласия (ICF) до отбора образцов для анализа ДНК. Пациенты, которые удовлетворяют критериям включения/исключения, являются пригодными для включения в исследование независимо от их решения участвовать в дополнительном исследовании по изучению геномики.

c. REGN3500 (или соответствующее плацебо) вводят в виде в/в однократной в день 1. Дупилумаб (или соответствующее плацебо) вводят п/к в виде 2 инъекций в день 1 и в виде 1 инъекции в день 15. Внутривенное введение исследуемого лекарственного средства выполняют до п/к введения исследуемого лекарственного средства с интервалом между в/в и п/к введением дозы, составляющим по меньшей мере 1 час. В день 1 и день 15 после п/к введения дозы дупилумаба за пациентами наблюдают в течение 8 часов перед их

уходом. Пациенты могут принимать пищу через 2 часа после завершения инфузии.

d. Все образцы крови (для лабораторной оценки безопасности, PK, ADA, определения биомаркеров и дальнейшего биомедицинского исследования) необходимо отбирать после ночного голодания в течение по меньшей мере 8 часов.

e. Измерение показателей жизненно важных функций:

e1. показатели жизненно важных функций следует измерять перед каждым отбором крови.

e2. В день 1 и день 15 исследования показатели жизненно важных функций измеряют до введения исследуемого лекарственного средства, непосредственно после (в пределах 10 минут) окончания в/в инфузии, и до п/к инъекции исследуемого лекарственного средства, и через 1, 2, 4, и 8 часов после окончания инъекции.

f. Подробная информация по измерению показателей ЭКГ:

f1. электрокардиографию выполняют перед отбором крови в ходе визитов, требующих отбора крови.

f2. В день 1 и день 15 ЭКГ выполняют до, непосредственно после (в пределах 10 минут) окончания в/в инфузии и через 4 часа после окончания п/к инъекции исследуемого лекарственного средства.

g. Все образцы крови для PK и ADA отбирают до начала введения исследуемого лекарственного средства.

g1. В день 1 и день 15 образцы для лабораторной оценки безопасности, ADA и определения биомаркеров отбирают до начала введения исследуемого лекарственного средства (натощак).

h. Спирометрию в клинических условиях выполняют в соответствии со стандартными критериями приемлемости по контролю качества Американского торакального общества с помощью стандартного спирометра (Miller et al. Standardisation of spirometry. Eur Respir J. 2005. 26:319-338).

i. Измерение FeNO следует выполнять после голодания в течение по меньшей мере 1 часа.

i1. Измерение FeNO следует выполнять до спирометрии и провокационной пробы с метахолином.

i2. Измерение FeNO следует выполнять до индуцирования мокроты.

i3. В дни выполнения провокационной пробы (визит 3, визит 8 и визит 12) измеряют FeNO до выполнения BAC и через 8 часов и 23 часа после BAC.

j. Дни, в которые можно отбирать мокроту, обозначены серым цветом.

j1. Скрининговые образцы мокроты до провокационной пробы с аллергеном отбирают через по меньшей мере 48 часов после провокационной пробы с метахолином в ходе визита 1 и за 72 часа до выполнения BAC в ходе визита 3. Другие образцы мокроты до провокационной пробы с аллергеном отбирают за по меньшей мере 72 часа до BAC. Если образец до BAC невозможно получить с первой попытки, повторная попытка может быть выполнена через по меньшей мере 72 часа.

j2. В дни BAC (визит 3, визит 8, визит 12) мокроту также отбирают через 8 часов после провокационной пробы и на следующий день через примерно 24 часа после проведения BAC (визит 4, визит 9 и визит 13).

l. Образец ДНК необходимо отбирать в день 1. Однако ДНК можно отбирать на любом визите в ходе курса испытания.

m. Цельную кровь для получения образцов РНК необходимо отбирать только в ходе указанных визитов исследования до BAC, спирометрии или процедур индуцирования мокроты в указанный день. Цельную кровь для получения образцов РНК необходимо отбирать до введения лекарственного средства в дни лечения с применением исследуемого лекарственного средства.

n. Образцы для определения биомаркеров отбирают в конкретные временные точки в ходе исследования с учетом следующих примечаний:

n1. образцы для определения биомаркеров и уровня общего IL-33 в дни проведения BAC (визит 3, визит 8 и визит 12) следует отбирать до проведения BAC и через 8 часов после проведения BAC (после сбора образца мокроты через 8 часов после BAC).

n2. Образцы для определения биомаркеров, отбираемые в день, следующий за проведением BAC (визит 4, визит 9 и визит 13), следует отбирать через 24 часа после проведения BAC, после отбора образца мокроты.

2 часть исследования

[00345] На **фиг. 3** показано, что во 2 части исследования примерно 6 пациентов получают 500 мкг ингаляционно флутиказона пропионата (2 впрыскивания по 250 мкг) на дозу два раза в день в течение 4 дней (в общей сложности 8 доз), начиная с дня 1. В день 1 пациенты получают лекарственное средство в клинике при этом осуществляют проверку техники ингаляции. Пациентов отправляют домой для самостоятельного введения лекарственного средства в дни 2 и 3. Образцы индуцированной мокроты отбирают после второй дозы флутиказона в день 1. В день 4 пациенты получают флутиказона пропионат (в клинике) до процедур BAC, и пациенты самостоятельно вводят вторую дозу в тот же день после индуцирования мокроты (либо в клинике, либо дома). Пациентам проводят процедуру ингаляционной BAC с применением HDM, аналогичной такой же процедуре в 1 части исследования, после получения седьмой из 8 доз флутиказона пропионата. Образцы индуцированной мокроты отбирают через 8 часов и 24 часа после провокационной пробы с применением HDM в день 4. Выполняют измерение легочной функции, которую оценивают посредством спирометрии, по уровню мРНК в мокроте, уровню цитокинов в мокроте, FeNO и дополнительным маркерам активности IL-33 и IL-4R в сыворотке крови, аналогично описанным в 1 части. В случае, если пациент не может вернуться в клинику в день 4, пациент может продолжать введение доз флутиказона пропионата два раза в день в течение не более 2 дополнительных дней. Когда пациент возвращается в клинику, он выполняет процедуры дня 4.

[00346] Пациенты придерживаются обычной для них активности в ходе исследования в течение общей продолжительности, составляющей примерно 2 недели.

[00347] 2 часть данного исследования выполняют параллельно с 1 частью. Пациенты, которые завершают 2 часть, могут принять участие в 1 части после периода отмывки, составляющего по меньшей мере 21 день.

Таблица 2. Расписание мероприятий для 2 части

	Скрининг				**Лечение**		**После лечения**		
		Индуцированная мокрота и BAC			**Индуцированная мокрота и BAC**				**EOS/ ET***
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**
День исследования (+ дни временного окна)	От -42 до-1				1	4 (+2)	5 (+2)	6 (+2)	15 (+2)
Административные									
Информированное согласие[a]	X								
Согласие на участие в дополнительном исследовании по изучению геномики[b]	X								
Медицинский анамнез	X								
Демографические показатели	X								
Критерии включения и исключения	X								
Исследуемое лекарственное средство									
Введение исследуемого лекарственного средства[c]					X[e1,f2,f]	X[e,f]			
Лабораторные анализы (все образцы для исходного уровня, собранные до введения дозы)[d]									
Гепатит (HBsAg, HBcAb, HCV) и скрининг в отношении HIV, анализ крови на TB[d,e1,f1]	X								
Скрининговый анализ мочи/крови на наличие наркотических веществ (в соответствии с SOP исследовательского центра)[d,e1,f1]	X								
Гематологическая панель[d,e1,f1]	X						X		X
Лабораторный биохимический анализ (в том числе на ионизированный кальций)[d,e1,f1]	X		X				X		X
Анализ сыворотки крови на беременность[d,e1,f1]	X		X						X
FSH[d,e1,f1]	X								
Анализ мочи (лабораторные показатели безопасности)	X		X				X		X
Процедуры клинической оценки[e]	X[e1]	X	X[e1]	X	X[e2]		X	X	X
Физикальное обследование	X								

	Скрининг				Лечение		После лечения		
		Индуцированная мокрота и BAC			Индуцированная мокрота и BAC				EOS/ET*
Процедура исследования	**Визит 1**	**Визит 2**	**Визит 3**	**Визит 4**	**Визит 5**	**Визит 6**	**Визит 7**	**Визит 8**	**Визит 9**
День исследования (+ дни временного окна)	От -42 до-1				1	4 (+2)	5 (+2)	6 (+2)	15 (+2)
Вес	X								X
Рост	X								
Электрокардиография [f,f1]	X		X		X[f2]		X		X
Нежелательные явления	X	X	X	X	X		X	X	X
Сопутствующие лекарственные препараты	X	X	X	X	X		X	X	X
Процедуры									
Кожная скарификационная проба с HDM (стандартная и тест на чувствительность кожи)	X								
Спирометрия в клинических условиях[g]	X[h1]	X[h1]	X[h1,1]	X[h1,1]	X[h1,1]	X[h1,1]	X[h1,1]	X[h1,1]	X[h1,1]
FeNO[h,h1]	X[h1]	X[h1,h2]	X[h1,h2,h3]	X[h1,h2,h3]	X[h1,h2,h3]	X[h1,h2,h3]	X[h1,h2,h3]	X[h1,h2]	X[h1]
Провокационная проба с метахолином	X[h1]								
Индуцированная мокрота[i]		X[h2,i1]	X[h2,i1]	X[h2,i1]	X[i1,h2,i2,1]	X[h2,i3,1]	X[h2,i3,1]		
BAC с HDM[h,k]			X			X			
Сбор образцов и определение биомаркеров									
ДНК (необязательно)[k]					X				
Образец для определения РНК в цельной крови (необязательно)[d,l]			X	X	X	X	X		X
SST2, кальцитонин, MMP12, TARC, PARC, эотаксин-3 в сыворотке крови/плазме крови[d, m]	X		X[m1]	X[m2]		X[m1]	X[m2]	X	
Общий уровень IL-33 в сыворотке крови[d, m]	X	X	X[m1]	X[m2]		X[m1]	X[m2]	X	X
Образцы сыворотки крови и плазмы крови для будущей биомедицинской научно-исследовательской работы[d]	X						X		

*EOS/ET: окончание исследования/ досрочное завершение; BAC: провокационная проба с бронхиальным аллергеном; HDM: клещ домашней пыли

Сноски для таблицы 2 с расписанием мероприятий

a. Информированное согласие может быть получено в ходе отдельного визита до скринингового периода.

b. Пациенты должны подписать отдельную форму информированного согласия (ICF) до отбора образцов для анализа ДНК. Пациенты, которые удовлетворяют критериям включения/исключения, являются пригодными для включения в исследование независимо от их решения участвовать в дополнительном исследовании по изучению геномики.

c. Пациенты начинают самостоятельный прием ингаляционного флутиказона пропионата два раза в день в течение 4 последовательных дней, начиная с дня 1. Пациенты получают флутиказона пропионат в клинике в день 1 и дома в дни 2 и 3. В день 4 пациенты получают флутиказона пропионат (в клинике) до процедур BAC, и пациент самостоятельно вводит вторую дозу в тот же день после индуцирования мокроты (либо в клинике, либо дома).

d. Все образцы крови (для лабораторной оценки безопасности, определения биомаркеров и дальнейшего биомедицинского исследования) необходимо отбирать после ночного голодания в течение по меньшей мере 8 часов.

e. Подробная информация по измерению показателей жизненно важных функций:

e1. Показатели жизненно важных функций следует измерять перед каждым отбором крови.

e2. В день 1 исследования показатели жизненно важных функций измеряют до введения исследуемого лекарственного средства, непосредственно после (в пределах 10 минут) и через 1, 2, 4, 8 и 12 часов после окончания введения флутиказона.

f. Подробная информация по измерению показателей ЭКГ:

f1. Электрокардиографию выполняют перед отбором крови.

f2. В день 1 ЭКГ следует выполнять до и непосредственно после (в пределах 10 минут) окончания введения флутиказона пропионата.

g. Спирометрию в клинических условиях выполняют в соответствии со стандартными критериями приемлемости по контролю качества Американского торакального общества с помощью стандартного спирометра (Miller et al. Standardisation of spirometry. Eur Respir J. 2005. 26:319-338.).

h. Измерение FeNO следует выполнять после голодания в течение по меньшей мере 1 часа.

h1. Измерение FeNO следует выполнять до спирометрии и провокационной пробы с метахолином.

h2. Измерение FeNO следует выполнять до индуцирования мокроты.

h3. FeNO измеряют до BAC и через 8 часов и 23 часа после BAC в дни проведения BAC.

h4. Измерение FeNO в день 1 следует выполнять до введения дозы.

i. Что касается скринингового периода и периода лечения, то все образцы мокроты до BAC следует отбирать за 72 часа до проведения BAC.

i1. В ходе скрининга образец индуцированной мокроты до проведения BAC отбирают за по меньшей мере 72 часа до BAC. Если в ходе скрининга образец до проведения BAC невозможно получить с первой попытки, повторная попытка может быть выполнена через по меньшей мере 72 часа. В ходе визита 3 мокроту отбирают через 8 часов после провокационной пробы и на следующий день через примерно 24 часа после проведения BAC (визит 4).

i2. Образцы индуцированной мокроты (до BAC) отбирают после второй дозы флутиказона в день 1. Повторный отбор образца мокроты до проведения BAC не допускается для BAC в ходе лечения.

i3. В день 4 пациентов подвергают BAC с применением HDM, аналогичной такой процедуре для 1 части исследования, после получения первой дозы флутиказона. Образцы индуцированной мокроты отбирают через 8 часов и 24 часа после BAC в день 4.

k. Образец ДНК следует отбирать в день 1, однако его можно отбирать в ходе любого визита в течение испытания.

l. Цельную кровь для получения образцов РНК следует отбирать в ходе визитов, указанных в таблице, до проведения BAC, спирометрии или процедур индуцирования мокроты в данный день. Цельную кровь для получения образцов РНК необходимо отбирать до введения лекарственного средства.

m. Образцы для определения биомаркеров можно отбирать во временные точки в ходе исследования согласно графику исследования с учетом следующих примечаний:

m1. образцы для определения биомаркеров и уровня общего IL-33 в дни проведения BAC необходимо отбирать до проведения BAC и через 8 часов после проведения BAC, после сбора образца мокроты через 8 часов после BAC.

m2. Биомаркеры, отбираемые в день после BAC, необходимо отбирать через 24 часа после проведения BAC, после отбора образца мокроты.

Исследуемая популяция:

[00348] популяция пациентов в данном исследовании представляет собой взрослых пациентов с астмой с аллергией к аллергену HDM. В ходе ряда исследований было продемонстрировано, что BAC индуцирует выраженное и воспроизводимое повышение уровня генных сигнатур воспаления, что может быть измерено в индуцированной мокроте пациентов с аллергической астмой. Провокационная проба с бронхиальным аллергеном (BAC) предоставляет возможность оценки потенциального влияния REGN3500 и дупилумаба на воспаление легких. При проведении опытными исследователями в соответствующих условиях BAC является безопасной и хорошо переносимой в популяции пациентов, предложенной для данного исследования. Однако поскольку существует риск индуцирования тяжелого острого бронхоспазма или анафилактической реакции (Diamant et al. Inhaled allergen bronchoprovocation tests. J Allergy Clin Immunol. 2013. 132:1045-1055 e1046), BAC не будет проводить у пациентов с тяжелой или нестабильной астмой.

[00349] Демографические и исходные характеристики включают стандартные демографические показатели (например, возраст, пол, расу, этническую принадлежность, вес, рост), характеристики заболевания, в том числе медицинский анамнез и лекарственный анамнез для каждого пациента, а также биомаркеры (общий уровень IL-33, sST2, кальцитонина и MMP12).

[00350] Включение предусматривает не более 38 пациентов в Великобритании для 2 частей исследования (примерно 32 пациента для 1 части и примерно 6 пациентов для 2 части).

[00351] В данное исследование включены не более примерно 38 некурящих взрослых пациентов (мужчин и женщин) в возрасте от 18 до 60 лет с персистирующей аллергической астмой легкой степени тяжести. Пациенты, включенные в данное исследование, должны быть клинически стабильными, а для контроля симптомов астмы им должно требоваться только применение β2-агониста короткого действия при необходимости. У пациентов, включенных в данное исследование, должна присутствовать аллергия к HDM, что определено посредством прик-теста.

Исследуемые когорты

[00352] Данное исследование состоит из 2 частей. Пациенты в 1 части исследования составляют когорту 1, а пациенты во 2 части составляют когорту 2.

[00353] В ходе 1 части примерно 32 пациента в соотношении 1:1:1:1 для получения REGN3500 (однократная доза в/в), дупилумаба (2 дозы п/к, Q2W), комбинации REGN3500 (однократная доза IV) и дупилумаба (2 дозы п/к, Q2W) или плацебо (однократная доза в/в и 2 дозы п/к, Q2W) при примерно 8 пациентах на группу лечения. Примерно 8 пациентов распределяют в группу лечения с целью получения данных для 6 пациентов на группу лечения в когорте 1.

[00354] Во 2 части примерно 6 пациентов получают лечение в открытом режиме с применением ингаляционного флутиказона пропионата в когорте 2.

Критерии включения

[00355] Пациент должен удовлетворять следующим критериям для того, чтобы считаться пригодным для включения в исследование: 1. Мужчина или женщина в возрасте от 18 до 60 лет включительно. 2. Индекс массы тела (BMI), составляющий 17-33 кг/м2 перед исследованием (BMI= вес [кг] / рост [м]2) при скрининге. 3. Наличие в анамнезе аллергической астмы легкой степени тяжести в течение по меньшей мере 6 месяцев с типичными симптомами, включающими кашель, свистящее дыхание, требующей только лечения с применением β2-агониста короткого действия при необходимости, а также клинически стабильное состояние. Пациента, помимо астмы в анамнезе, оценивают на предмет наличия хорошего здоровья на основании медицинского анамнеза, физикального обследования, измерения показателей жизненно важных функций, ЭКГ и лабораторных тестов по безопасности, выполняемых при скрининге и/или до введения начальной дозы исследуемого лекарственного средства. 4. Объем форсированного выдоха FEV1 до введения бронходилататора при скрининге, который составляет $\geq$ 70% от прогнозируемого значения. 5. Пациент является некурящим пациентом или пациентом, бросившим курить по меньшей мере 12 месяцев назад. Кумулятивное воздействие табака на пациента должно равняться или составлять менее 5 условных лет курения, где количество условных лет курения=(количество сигарет, выкуриваемых в день $\times$ количество лет курения) $\div$ 20. 6. Пациент демонстрирует атопию по отношению к HDM, подтвержденную положительным результатом прик-теста (для определения положительной реакции размер волдыря должен составлять 3 мм или больше, чем у негативного контроля) при скрининге. 7. Пациент характеризуется двойной реакцией на

ингаляционную BAC, проявляющуюся в виде положительного раннего и позднего бронхоспазма дыхательных путей, индуцированного аллергеном, где EAR определяется как снижение FEV1 на по меньшей мере 20% от значений исходного уровня до провокационной пробы после разбавления в течение 30 минут после ингаляционной BAC, и LAR определяется как снижение от значения FEV1 после разбавления на 215% в по меньшей мере 3 случаях, 2 из которых должны быть последовательными, от 3 до 8 часов после введения аллергена в конечной концентрации. 8. Пациент способен переносить индуцирование мокроты и продуцировать подходящее количество мокроты после BAC в ходе скринингового периода (во временных точках либо 8 часов, либо 24 часа после проведения BAC). 9. Пациент осознает доступность альтернативных средств лечения и наличие рисков, связанных с исследованием, способен выполнять процедуры исследования и добровольно соглашается на участие посредством предоставления письменного информированного согласия. 10. Пациент согласен придерживаться ограничений, указанных в протоколе исследования, включающих запрещенные лекарственных препараты и процедуры. 11. Пациент демонстрирует положительную реакцию на провокационную пробу с метахолином при скрининге (снижение FEV1 220% по сравнению со значением после разбавления, где PC20 метахолина составляет $\leq$ 16 мг/мл).

Критерии исключения

[00356] 1. Наличие в анамнезе астмы, угрожающей жизни, определяемой как приступ астмы, который требовал интубации и/или был ассоциирован с гиперкапнией, остановкой дыхания и/или гипоксическими судорогами. 2. Пациент был госпитализирован или обращался в отделение неотложной помощи по поводу астмы в пределах 12 месяцев до скрининга. 3. У пациента были приступы астмы или инфекции дыхательных путей в течение 4 недель до скрининга или до введения начальной дозы исследуемого лекарственного средства. 4. У пациента диагностированы другие заболевания дыхательных путей/легких, такие как хроническая обструктивная болезнь легких (COPD), что определено руководствами Глобальной инициативы по диагностике и лечению хронической обструктивной болезни легких (GOLD) (обновленными в 2013 году), кистозный фиброз, бронхоэктаз, или недостаточность альфа-1-антитрипсина, или ограниченное заболевание легких в анамнезе. 5. 5. После скрининговой BAC у пациента отмечается снижение FEV1 ниже 25% от прогнозируемого значения и/или FEV1<1,4 л или у него отмечается симптоматическое падение показателя FEV1, ассоциированное с одышкой, не купируемое с помощью бронходилататоров в пределах обоснованного периода времени (примерно 30 минут) после воздействия аллергена. 6. Наличие в анамнезе тяжелых аллергий, или анафилактической реакции, или тяжелой непереносимости рецептурных или безрецептурных лекарственных средств или продуктов питания. 7. Пациент принимал пероральные или системные кортикостероиды в течение 8 недель или ингаляционные кортикостероиды/назальные кортикостероиды в течение 4 недель скрининга и/или до рандомизации. 8. Пациент принимал любые другие

лекарственные препараты для лечения астмы помимо β-агонистов короткого действия (например, антагонист лейкотриеновых рецепторов, антагонист мускарина, тербуталин, теофиллиновые бета-блокаторы, дигоксин, NSAID, ингибиторы MAO или трициклические антидепрессанты) в течение 4 недель скрининга или до введения начальной дозы исследуемого лекарственного средства. Что касается одобренных лекарственных средств или экспериментальных биологических средств (например, антитела к IgE или антитела к IL5), пациент принимал их в течение 6 месяцев до скрининга или по меньшей мере 5 периодов полужизни, в зависимости от того, что дольше. 9. Пациент получал лечение с применением экспериментального лекарственного средства в течение 8 недель или в течение 5 периодов полужизни (если известно), в зависимости от того, что дольше, до скрининга или до введения начальной дозы исследуемого лекарственного средства. 10. Пациент получал лечение живой (аттенуированной) вакциной в течение 12 недель до скрининга. 11. При скрининге расчетная скорость клубочковой фильтрации (eGFR) у пациента составляет < 60 мл/мин/1,73 $м^2$ на основании уравнения MDRD. 12. При скрининге у пациента положительный результат анализа на HBsAg, HBcAb или HCV. 13. Наличие в анамнезе известных случаев инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), или положительный результат серологической реакции на ВИЧ в ходе скринингового визита. 14. При скрининге у пациента положительный результат анализа крови на туберкулез (ТВ). 15. Наличие в анамнезе туберкулеза или системных микозов. 16. У пациента диагностирована существующая или недавняя (в пределах предыдущих 2 месяцев скрининга) бактериальная, протозойная, вирусная, паразитарная инфекция; или имеется подозрение на паразитарную инфекцию или высокий риск ее возникновения. 17. Наличие в анамнезе клинически значимого неврологического заболевания, эндокринного заболевания, заболевания желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистого заболевания, заболевания системы крови, заболевания печени, заболевания иммунной системы, заболевания почек или любого другого заболевания системы органов (помимо астмы или другого аллергического заболевания легкой степени тяжести, такого как аллергический ринит). Пациенты с неосложненным нефролитиазом (камнями в почках) в анамнезе могут быть включены в исследование на усмотрение исследователя. 18. Пациент перенес серьезное хирургическое вмешательство за последние 2 месяца или пациенту предстоит хирургическое вмешательство в ходе исследования или периода последующего наблюдения. 19. Наличие рака в анамнезе за исключением пациентов с базальноклеточной карциномой или карциномой шейки матки in situ, излеченной насколько это возможно, а также пациентов с другими злокачественными опухолями, которые были подвергнуты успешному лечению > 10 лет до скрининга, где согласно оценке как исследователя, так и лечащего врача соответствующее последующее наблюдение не выявило доказательств рецидива во время скрининга. 20. Положительные результаты анализа мочи на наличие наркотических веществ в ходе скрининга или до рандомизации (например, амфетамины/метамфетамины, барбитураты, бензодиазепины, каннабиноиды, кокаин, опиаты и котинин), если только по мнению исследователя положительные результаты

анализа не могут быть обусловлены текущим приемом пациентом назначенных лекарственных препаратов. 21. Наличие в анамнезе наркотической или алкогольной зависимости в течение года до скринингового визита. 22. Употребление алкоголя в течение 48-часового периода до скрининга. 23. Нежелание придерживаться ограничений в ходе исследования в отношении употребления алкоголя. В ходе исследования прием алкоголя взрослыми будет ограничен до не более чем 2 порций в день (при этом 1 порция эквивалентна 12 унциям обычного пива, 5 унциям вина или 1,5 унциям 40-градусного спирта-ректификата). Пациент должен воздерживаться от приема алкоголя в пределах 48 часов визита исследования, включающего BAC. 24. Нежелание придерживаться ограничений в ходе исследования в отношении употребления кофеина. Пациенты должны воздерживаться от употребления кофеина в течение 8 часов перед всеми визитами исследования. Разрешаются продукты, не содержащие кофеин. 25. Возраст пациента не достигает установленного законом возраста согласия, или пациент является недееспособным вследствие психического заболевания, или признан недееспособным по закону. 26. Наличие в анамнезе любого заболевания, которое по мнению исследователя может искажать результаты исследования или при котором участие в исследовании будет создавать дополнительные риски для пациента. 27. Наличие новой физической нагрузки или существенное изменение в предшествующей физической нагрузке в течение 4 недель до скринингового визита. Пациенты, которые не желают поддерживать аналогичный уровень физической нагрузки на протяжении исследования или воздерживаться от необычно интенсивной физической нагрузки на протяжении испытания, будут исключены. 28. Наличие беременности, или намерение забеременеть, или кормление грудью. 29. Пациент представляет собой ведущую активную половую жизнь женщину детородного возраста, которая не желает применять высокоэффективный способ контрацепции до начала введения первой дозы, в ходе исследования и в течение по меньшей мере 4 месяцев после введения последней дозы. Высокоэффективные способы контрацепции включают постоянное применение пероральных контрацептивов, ассоциированных с подавлением овуляции (таких как контрацептивы, содержащие эстроген/прогестерон или высокую дозу прогестерона) в течение 2 или более менструальных циклов до скрининга; внутриматочное устройство; внутриматочную систему высвобождения гормонов; билатеральную перевязку маточных труб; вазектомию у партнера и/или половое воздержание. Контрацепция для пациентов мужского пола не требуется. 30. Наличие известной чувствительности к доксициклину, и/или к тетрациклину, или к любому из компонентов состава экспериментального продукта.

Исследуемые средства лечения

1 часть

[00357] REGN3500 поставляют в виде лиофилизированного порошка. Плацебо, которое соответствует REGN3500 (плацебо, соответствующее REGN3500), получают в виде того же состава, что и REGN3500, но без добавления белка (т. е. активного вещества, моноклонального антитела к IL-33). Перед инфузией содержимое флаконов с REGN3500

или плацебо, соответствующим REGN3500, восстанавливают стерильной водой. REGN3500 и плацебо, соответствующее REGN3500, в/в вводят исследователь или другой квалифицированный персонал исследования в день 1.

[00358] Дупилумаб поставляют в виде предварительно заполненных шприцов, посредством каждого можно доставить 2 мл раствора 150 мг/мл (300 мг) исследуемого лекарственного средства. Плацебо, соответствующее дупилумабу (плацебо, соответствующее дупилумабу), получают в виде того же состава, что и дупилумаб, но без добавления белка. Дупилумаб или плацебо, соответствующее дупилумабу, п/к вводят исследователь или другой квалифицированный персонал исследования в 2 инъекциях в день 1 (600 мг) и в 1 инъекции (300 мг) в день 15. Все п/к инъекции выполняются в области живота.

[00359] Пациентов произвольно распределяют поровну для получения REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба или плацебо в соответствии с одной из следующих схем лечения: REGN3500: REGN3500 в/в 10 мг/кг и 2 инъекции плацебо, соответствующего дупилумабу, п/к в день 1; одна инъекция плацебо, соответствующего дупилумабу, п/к в день 15; дупилумаб: плацебо, соответствующее REGN3500, для в/в введения и 2 инъекции дупилумаба п/к 300 мг (общая нагрузочная доза 600 мг) в день 1; одна инъекция дупилумаба п/к 300 мг в день 15; комбинация REGN3500 и дупилумаба: REGN3500 в/в 10 мг/кг и 2 инъекции дупилумаба п/к 300 мг (общая нагрузочная доза 600 мг) в день 1; одна инъекция дупилумаба п/к 300 мг в день 15; и плацебо: плацебо, соответствующее REGN3500, в/в и 2 инъекции плацебо, соответствующего дупилумабу, п/к в день 1; одна инъекция плацебо, соответствующего дупилумабу, п/к в день 15. Все пациенты сначала получают в/в инфузию с последующей п/к инъекцией. За пациентами осуществляют наблюдение в течение не менее 1 часа между п/к инъекцией и в/в инфузией.

2 часть

[00360] Флутиказона пропионат (250 мкг/впрыскивание) поставляют в виде дозирующих ингаляторов и вводят посредством ингаляции 500 мкг (2 впрыскивания по 250 мкг) на дозу два раза в день с дня 1 до дня 4.

Назначение лечения

[00361] В 1 части исследования рандомизацию осуществляют в виде 2 отдельных фаз. Восемь пациентов рандомизируют в соотношении 1:1:1:1 для получения REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба или плацебо в соответствии со схемой центральной рандомизации, обеспечиваемой интерактивной системой голосового ответа (IVRS)/интерактивной системой веб-ответа (IWRS) уполномоченному фармацевту исследования (или квалифицированному уполномоченному лицу). После того, как первые 8 пациентов завершили период оценки безопасности до визита исследования в день 24 (визита 7) и RSOC выполняет обзор данных по безопасности и одобряет дополнительное включение, дополнительные примерно 24 пациента могут быть рандомизированы в соотношении 1:1:1:1 для получения REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и

дупилумаба или плацебо аналогично первым 8 пациентам.

[00362] Во 2 части исследования включают примерно 6 пациентов и подвергают их лечению в открытом режиме с применением флутиказона пропионата. Пациенты, которые завершают 2 часть, могут принять участие в 1 части после периода отмывки, составляющего по меньшей мере 21 день.

[00363] Для 1 части пациенты, включенные в исследование, главные исследователи и персонал исследовательского центра будут оставаться заслепленными по отношению ко всем рандомизационным назначениям на протяжении исследования. Руководитель исследования компании Regeneron, медицинский наблюдатель, наблюдатель исследования и любой другой персонал компании Regeneron и контрактной исследовательской организации (CRO), которые регулярно контактируют с исследовательским центром, остаются заслепленными по отношению ко всем рандомизационным назначениям для пациентов.

[00364] Определенные лица, не участвующие в исследовании, могут иметь доступ к незаслепленным данным, необходимым для обзора данных по безопасности или другого обзора данных.

[00365] Используются замаскированные наборы исследуемых лекарственных средств, кодируемые с помощью системы нумерации для лекарственных препаратов. С целью поддержания режима заслепления у лиц, участвующих в проведении исследования, отсутствует доступ к спискам, связывающим коды с номерами партии продукта.

[00366] Результаты определения концентрации антитела к лекарственному средству и лекарственного средства не сообщают в исследовательские центры, и руководящая группа спонсора не имеет доступа к результатам, связанным с идентификацией пациента, до тех пор, пока не происходит окончательное закрытие базы данных. Специалист по биоаналитике , представитель биоаналитической группы и представитель по клинической фармакологии, ответственные за определение уровней концентрации лекарственного средства в сыворотке крови, ADA и биомаркеров, не являются заслепленными по отношению к информации о введении доз.

Логистика и учет средств лечения

[00367] Для 1 части исследования для пометки заслепленного экспериментального исследуемого лекарственного средства используют систему нумерации для лекарственных препаратов. Списки привязки кодов к номерам партии продукта, поддерживаются группами (или компаниями), ответственными за упаковку исследуемого лекарственного средства. С целью поддержания режима заслепления у лиц, участвующих в проведении исследования, отсутствует доступ к данным спискам. Данную автоматизированную систему также используют для управления данными о сроках годности экспериментальных исследуемых лекарственных средств в соответствии с Пояснительной запиской EMA по применению технологий интерактивного ответа (IVRS) в клинических испытаниях с особым акцентом на обработку данных по срокам годности (EMA/INS/GCP/600788/2011, декабрь 2013 года). Информация на этикетке лекарственного

средства дупилумаб будет включать сроки годности. Сроки годности не включены в информацию на этикетках для REGN3500.

[00368] Для 2 части открытое исследуемое лекарственное средство демонстрирует номер партии продукта и срок годности на этикетке. Исследуемое лекарственное средство будут хранить в исследовательском центре при температуре 2-8°C.

[00369] В ходе исследования REGN3500, дупилумаб и соответствующее плацебо для каждого исследуемого лекарственного средства пересылают исследователю или уполномоченному лицу при температуре 2-8°C с одинаковыми интервалами времени или при необходимости. В указанные временные точки в ходе исследования (например, в ходе промежуточных визитов проверки исследовательского центра), в ходе визита закрытия исследовательского центра и после сверки и документирования лекарственного средства наблюдателем исследовательского центра все вскрытые и невскрытые исследуемые лекарственные средства уничтожают или возвращают спонсору или уполномоченному лицу.

[00370] Все журналы учета лекарственных средств должны постоянно обновляться. Исследователь должен быть способен провести учет всех вскрытых и невскрытых исследуемых лекарственных средств. Данные журналы должны содержать информацию о датах, количестве и исследуемом лекарственном препарате, который был выдан каждому пациенту, возвращен каждым пациентом (если применимо) и утилизирован в исследовательском центре или возвращен спонсору или уполномоченному лицу. Все журналы учета должны быть доступны для проверки спонсором и инспекторами регуляторного органа; фотокопии должны быть предоставлены спонсору по завершении исследования.

[00371] Все журналы соблюдения режима лечения должны постоянно обновляться и должны быть доступны для проверки спонсором и инспекторами регуляторного органа.

Сопутствующие лекарственные препараты и процедуры

[00372] Любое средство для лечения, вводимое с момента информированного согласия до окончания периода лечения, считается сопутствующим лекарственным препаратом. Такие включают лекарственные препараты, прием которых был начат до исследования и продолжается в ходе исследования. Любые сопутствующие лекарственные препараты должны быть проверены и одобрены медицинским наблюдателем компании Regeneron. Информацию о сопутствующем лекарственном препарате для каждого пациента регистрируют в ходе каждого визита исследования от скрининга до окончания исследования.

[00373] Начало лечения с применением любого нового рецептурного лекарственного препарата запрещено от момента скрининга до визита окончания исследования, если не одобрено главным исследователем или уполномоченным лицом и медицинским наблюдателем.

[00374] Кроме того, в соответствии с критериями пригодности, следующие лекарственные препараты и процедуры запрещены в ходе исследования: антагонист

лейкотриеновых рецепторов, антагонист мускарина, тербуталин, теофиллин, бета-блокаторы, дигоксин, NSAID, ингибиторы MAO или трициклические антидепрессанты, рофлумиласт и кромогликат; терапия биологическими препаратами (такая как антителом к IgE, антителом к IL-5) или иммунотерапия (подкожная иммунотерапия (SCIT), сублингвальная иммунотерапия (SLIT) или пероральная иммунотерапия(OIT)); лечение живой (аттенуированной) вакциной; пероральные и системные кортикостероиды; лечение с применением ингаляционного или назального кортикостероида; появление новой физической нагрузки или существенное изменение в предшествующей физической нагрузке в течение 4 недель до скринингового визита (пациенты должны проявлять желание поддерживать аналогичный уровень физической нагрузки на протяжении исследования и воздерживаться от необычно интенсивной физической нагрузки на протяжении испытания); в ходе исследования прием алкоголя взрослыми будет ограничено до не более чем 2 порций в день (при этом 1 порция эквивалентна 12 унциям обычного пива, 5 унциям вина или 1,5 унциям 40-градусного спирта ректификата) и пациенты должен воздерживаться от употребления алкоголя в пределах 48-часового периода до скрининга и визита исследования с применением аллергена; и пациенты должны воздерживаться от кофеина в течение 8 часов перед всеми визитами исследования (разрешены продукты, не содержащие кофеин).

[00375] Разрешены следующие лекарственные препараты: β-агонисты короткого действия; заместительная терапия гормонами щитовидной железы у пациентов, которые принимали стабильные дозы в течение > 6 месяцев до скрининга; витамины и добавки кальция; безрецептурные антигистаминные средства и сосудосуживающие средства; парацетамол (следует быть осторожным, чтобы соблюдать все инструкции по введению парацетамола и не превышать местных максимально допустимых суточных доз); слабительные средства; антацидные средства и термоинактивированная вакцина.

Процедуры исследования

[00376] Следующие процедуры проводят исключительно с целью определения пригодности для включения в исследование или определения характеристик пациентов в группе на исходном уровне: регистрация демографических показателей, сбор данных медицинского анамнеза, ВИЧ-скрининг, гепатита и прием наркотических веществ, прик-тесты с HDM и провокационная проба с метахолином.

[00377] Процедуры обеспечения безопасности: контроль по обеспечению безопасности пациента осуществляют по АЕ, о которых уведомляют пациенты или которые выявлены исследователем, а также посредством клинических лабораторных анализов (например, биохимического анализа, анализа крови и анализа мочи), показателей жизненно важных функций и стандартного автоматического снятия ЭКГ в 12 отведениях. Клинически значимые отклонения (при их наличии) контролируют до разрешения или до клинически стабильного состояния.

[00378] Показатели жизненно важных функций: собирают данные о показателях жизненно важных функций, включающие температуру, кровяное давление, пульс и

частоту дыхания, после по меньшей мере 5-минутного отдыха перед введением дозы во временных точках в соответствии с таблицей 1 и таблицей 2.

[00379] Физикальное обследование: тщательное и полное физикальное обследование, включающее рост и вес, выполняют во временных точках в соответствии с таблицей 1 и таблицей 2. Следует соблюдать осторожность, чтобы обследовать и оценить любые отклонения, которые могут присутствовать, как указано в медицинском анамнезе пациента.

[00380] Электрокардиограмма: электрокардиографию следует выполнять перед отбором крови в ходе визитов, требующих отбора крови. Стандартную ЭКГ в 12 отведениях выполняют во временных точках, указанных в таблице 1 и таблице 2. Частоту сердечных сокращений регистрируют по желудочковому ритму и регистрируют интервалы PR, QRS, RR и QT. Электрокардиограммы или заключения ЭКГ сохраняют в базе данных. Для процедуры ЭКГ выполняют систематическую цифровую регистрацию ЭКГ в 12 отведениях после того, как пациент находился в положении лежа на спине в течение по меньшей мере 10 минут. Электроды располагают на одном и том же месте для каждой регистрации ЭКГ в ходе исследования. Каждая ЭКГ состоит из одновременно 10-секундного считывания в 12 отведениях, что дает одну распечатку ЭКГ в 12 отведениях (25 мм/с, 10 мм/мВ) с оценкой (интервалы HR, PR, QRS, RR, QT и QTc), включающей дату, время, инициалы и номер пациента, подпись врача-исследователя и по меньшей мере 3 комплекса для каждого отведения. Считывание используют для непосредственной оценки безопасности. Медицинское заключение исследователя и значения ЭКГ регистрируются в e-CRF.

[00381] Прик-тесты с HDM: в ходе скринингового визита выполняют стандартный прик-тест с применением аллергена HDM для подтверждения соответствия критериям включения. После этого выполняют последовательный прик-тест с применением растворов HDM для определения чувствительности кожи. Показатель чувствительности кожи используют для определения схемы введения аллергена, подлежащей использованию в ходе скрининговой BAC.

[00382] Провокационная проба с метахолином: в ходе скринингового визита выполняют провокационную пробу с метахолином для подтверждения соответствия критериям включения и определения схемы введения аллергена, используемой в ходе скрининговой BAC. Провокационную пробу с метахолином выполняют в соответствии с руководством ATS/ERS (1999) (Crapo RO, et al. Guidelines for methacholine and exercise challenge testing-1999. Данное официальное заявление Американского торакального общества было принято Советом директоров ATS в июле 1999 года. Am J Respir Crit Care Med. 2000 Jan;161(1):309-29) с использованием протокола 2-минутного спокойного дыхания.

Лабораторные исследования

[00383] Образцы для анализа крови, биохимического анализа, анализа мочи и теста на беременность анализировали в центральной лаборатории. Подробные инструкции по

отбору образцов крови находятся в руководстве по лабораторным исследованиям, предоставленном исследовательским центрам.

Образцы для лабораторных анализов будут отбирать в ходе визитов в соответствии с таблицей 1. Анализы будут включать:

Биохимический анализ крови

Натрий Общий белок, сыворотка крови Общий билирубин

Калий Креатинин Общий холестерин*

Хлорид Азот мочевины в крови (BUN) Триглицериды

Диоксид углерода Аспартатаминотрансфераза (AST) Мочевая кислота

Кальций Аланинаминотрансфераза (ALT) Креатинфосфокиназа (CPK)

Глюкоза (натощак) Щелочная фосфатаза Ионизированный кальций

Альбумин Лактатдегидрогеназа (LDH)

*(липопротеин низкой плотности [LDL] и липопротеин высокой плотности [HDL])

Анализ крови

Гемоглобин Развернутая формула:

Гематокрит Нейтрофилы

Эритроциты (RBC) Лимфоциты

Лейкоциты (WBC) Моноциты

Эритроцитарные индексы Базофилы

Число тромбоцитов Эозинофилы

Анализ мочи

Цвет Глюкоза RBC

Прозрачность Кровь Гиалиновые и другие цилиндры

pH Билирубин Бактерии

Удельный вес Лейкоцитарная эстераза Эпителиальные клетки

Кетоны Нитрит Кристаллы

Белок WBC Дрожжи

Другие лабораторные анализы

[00384] Пациентов тестируют в отношении уровней фолликулостимулирующего гормона (FSH) (только женщины в менопаузе) и анализируют сыворотки крови и мочи на беременность (только женщины) во временных точках, перечисленных в таблице 1 и таблице 2. Образцы отбирают для оценки sST2 и общего уровня IL-33, кальцитонина, MMP12, TARC, PARC, эотаксина-3 в сыворотке крови/плазме крови. Выполняют анализы на ВИЧ, HBsAg, HBcAb и HCV, а также анализ крови на ТВ. Кроме того, отбирают образцы мочи для скрининга на прием наркотических веществ. Образцы для определения уровня интактного паратиреоидного гормона (iPTH), 25-гидроксивитамина D отбирают в 1 части (таблица 1) и не отбирают во 2 части исследования.

Фармакокинетические процедуры и процедуры по определению антитела к лекарственному средству

[00385] Образцы для определения концентрации лекарственного средства

отбирают во временных точках, перечисленных в таблице 1. Любые неиспользованные образцы можно использовать для поисковых исследований биомаркеров.

[00386] Измерения и образцы для определения антитела к лекарственному средству: образцы для оценки ADA отбирают во временных точках, перечисленных в таблице 1. Результаты любых поисковых анализов сообщают отдельно от отчета о клиническом исследовании. Неиспользованные образцы, отобранные для анализов ADA, можно использовать для дальнейшего биомедицинского исследования.

[00387] Фармакодинамические процедуры: фармакодинамические процедуры включают BAC, индуцирование мокроты, измерение экспрессии генов по уровням мРНК мокроты, измерение FEV1 в клинических условиях, FeNO и измерение уровней циркулирующих в крови биомаркеров.

[00388] Провокационная проба с бронхиальным аллергеном: выполняют BAC с применением HDM в соответствии со стандартными процедурами, использующими расчетную формулу Кокрофта для аллергена (Cockcroft et al. The links between allergen skin test sensitivity, airway responsiveness and airway response to allergen. Allergy. 2005 Jan;60(1):56-59), и как описано в руководстве по проведению исследования, для подтверждения присутствия реакции ранней и поздней фаз в ходе скрининговых визитов, указанных в таблице 1 и таблице 2. BAC после лечения выполняют с применением схемы введения доз, рассчитанной на основании скрининговой BAC. EAR измеряют в виде наибольшего снижения FEV1 в течение первых 120 минут (30 минут для включения при скрининге). LAR измеряют в виде значения FEV1 от 3 до 8 часов после ингаляции аллергена.

[00389] Индуцирование мокроты: индуцирование мокроты выполняют во временных точках в соответствии с таблицей 1 и таблицей 2. Гипертонический солевой раствор (4,5% NaCl) распыляют и вдыхают через рот, при этом нос держат закрытым с помощью прищепки, в течение 4 периодов по 5 минут. Спирометрию выполняют через примерно 7 минут после каждого 5-минутного периода индуцирования в качестве процедуры обеспечения безопасности. Индуцирование мокроты обычно хорошо переносится, однако у некоторых пациентов развивается свистящее дыхание и диспноэ. Любое сужение дыхательных путей, вызванное индуцированием мокроты с помощью гипертонического солевого раствора, можно быстро обратить посредством приема ингаляционного β2-агониста короткого действия (Wong et al. Safety of one method of sputum induction in asthmatic subjects. Am J Respir Crit Care Med. 1997. 156:299-303.).

[00390] Измерение уровней экспрессии генов в индуцированной мокроте: образцы индуцированной мокроты отбирают во временных точках в соответствии с таблицей 1 и таблицей 2. Мокроту обрабатывают с получением РНК и выполняют анализы экспрессии генов с применением либо анализов Taqman, либо секвенирования РНК, либо Nanostring. Исследуемые гены представляют собой гены, которые, как предполагается, имеют отношение к патофизиологии астмы (воспалению 1 типа и 2 типа), целевой активности и механизму действия терапии с использованием REGN3500, дупилумаба и/или комбинации

REGN3500 и дупилумаба. Молекулярная сигнатура для воспаления 1 типа может включать гены IFNγ, CXCL9, CXCL10, CXCL11, IL-8, MPO и эластазы нейтрофилов. Молекулярная сигнатура для воспаления 2 типа может включать гены IL-4, IL-5, IL-13, IL-9, CCL17, CCL26, CCL13 и CCL11. Перечень исследуемых генов может быть изменен или расширен по мере того, как дополнительные потенциально связанные или новые биомаркеры обнаруживают в ходе исследования.

[00391] Спирометрия: спирометрию в клинических условиях выполняют в соответствии со стандартными критериями приемлемости согласно контролю качества Американского торакального общества с помощью стандартного спирометра (Miller et al. Force. Standardisation of spirometry. Eur Respir J. 2005. 26:319-338.). В ходе исследования (скрининг и лечение, а также периоды после лечения) требуется, чтобы у пациенты проводили измерение спирометрических показателей (FEV1) в клинических условиях в ходе каждого запланированного визита исследования (таблица 1 и таблица 2).

[00392] Фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе: измерение уровня FeNO у пациентов с астмой используют в качестве маркера воспаления дыхательных путей. Фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе анализируют в конденсате выдыхаемого воздуха. Пациентов инструктируют о необходимости воздержания от употребления с пищей или питья продуктов, богатых нитратами, за по меньшей мере 2 часа и от любой пищи или напитков за по меньшей мере 1 час до измерений FeNO, при этом измерения FeNO должны выполняться до любого вида спирометрии. В ходе исследования (скрининг и лечение, а также периоды после лечения) требуется, чтобы у пациентов измеряли FeNO согласно указанному (таблица 1 и таблица 2).

[00393] Циркулирующие в крови биомаркеры: образцы для определения циркулирующих в крови биомаркеров отбирают во временных точках в соответствии с таблицей 1 и таблицей 2. Измерения уровней биомаркеров выполняют в образцах сыворотки крови и плазмы крови для определения эффектов в отношении биомаркеров патобиологии воспалительных заболеваний или связанных физиологических и патогенетических процессов. Исследуемые биомаркеры представляют собой биомаркеры, которые, как предполагается, связаны с патофизиологией заболеваний, целевой активностью и механизмом действия REGN3500 (и/или комбинированной терапии) и возможным видам токсичности. Биомаркеры, исследуемые в крови, могут включать без ограничения IL-33, растворимый ST2, кальцитонин и MMP12.

[00394] Дальнейшее биомедицинское исследование: образцы для дальнейшего биомедицинского исследования, а также неиспользованные образцы для PK и ADA будут хранить не более 15 лет после конечной даты закрытия базы данных. Неиспользованные образцы могут использоваться для дальнейшего биомедицинского исследования, в том числе для исследования воспалительных заболеваний. Через 15 лет любые оставшиеся образцы будут уничтожены.

[00395] Дополнительное исследование по изучению геномики - необязательно: пациентам, которые дают согласие на участие в дополнительном исследовании по

изучению геномики, перед отбором образцов необходимо подписать отдельную ICF для дополнительного исследования по изучению геномики. От пациентов не требуется участия в дополнительном исследовании по изучению геномики для того, чтобы быть включенными в основное исследование. Как образцы ДНК, так и образцы для получения РНК из цельной крови описаны в дополнительном исследовании по изучению геномики. Образцы для экстрагирования ДНК необходимо отбирать в день 1/на исходном уровне (до введения дозы), но их можно отбирать в ходе любого визита исследования. Цельную кровь для получения образцов РНК необходимо отбирать так, как это указано в графике исследования. Образцам ДНК для дополнительного исследования по изучению геномики присваивают двойной код в соответствии с руководством E15 Международного совета по гармонизации (ICH). Образцы для дополнительного исследования будут храниться не более 15 лет после конечной даты закрытия базы данных и могут использоваться для исследовательских целей. Цель геномных анализов состоит в идентификации геномных ассоциаций с клиническим ответом или биомаркерным ответом, другими показателями клинического исхода и возможными AE. Кроме того, также могут быть исследованы ассоциации между геномными вариантами и прогнозом или прогрессированием, а также другими заболеваниями. Эти данные могут быть использованы или объединены с данными, полученными в других исследованиях, для идентификации и валидации геномных маркеров, связанных с исследуемыми лекарственным средством или заболеваниям. Анализы могут включать определение последовательности или исследования однонуклеотидного полиморфизма генов-кандидатов и окружающих геномных областей. Также можно использовать другие способы, включающие полноэкзомное секвенирование, полногеномное секвенирование, вариацию числа копий ДНК и секвенирование транскриптома. Перечень способов может быть расширен и включать новую методологию, которая может быть разработана в ходе данного исследования или периода хранения образцов.

Конечные точки

Измерения мРНК в мокроте

[00396] Образцы индуцированной мокроты использовались в клинических исследованиях астмы для оценки воспаления дыхательных путей. В ходе исследований сравнения мокроты от пациентов с астмой с мокротой от здоровых контрольных субъектов были обнаружены повышенные концентрации IL-33 и ST2 (Hamzaoui et al. Induced sputum levels of IL-33 and soluble ST2 in young asthmatic children. J Asthma. 2013. 50:803-809 и Salter et al. IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. Respir Res. 2016. 17:5), эотаксина, TARC (Heijink et al. Effect of ciclesonide treatment on allergen-induced changes in T cell regulation in asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2008. 145:111-121 и Sekiya et al. Increased levels of a TH2-type CC chemokine thymus and activation-regulated chemokine (TARC) in serum and induced sputum of asthmatics. Allergy. 2002. 57:173-177) и как IL-5, так и IL-13 (Park et al. Interleukin-13 and interleukin-5 in induced sputum of eosinophilic bronchitis: comparison with asthma. Chest.

2005. 128:1921-1927 и Peters et al. Measures of gene expression in sputum cells can identify TH2-high and TH2-low subtypes of asthma. J Allergy Clin Immunol. 2014. 133:388-394) с точки зрения уровня белка и/или РНК. Уровни цитокинов в мокроте, таких как IL-4, IL-5 и IL-13, повышены и ассоциируются с наличием симптомов астмы и степенью тяжести (Truyen et al. Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. Thorax. 2006. 61:202-208.)

[00397] В ходе предыдущих исследований BAC у пациентов с астмой легкой степени тяжести обуславливала резкое повышение в легких уровней цитокинов, связанных с воспалением 2 типа, таких как IL-13 и IL-5, на примерно 10X. Лечение ингаляционными кортикостероидами значительно подавляло данное опосредованное BAC повышение уровней белка и мРНК цитокинов, связанных с воспалением 2 типа (Zuiker et al. Kinetics of TH2 biomarkers in sputum of asthmatics following inhaled allergen. Eur Clin Respir J. 2015. 2 и Zuiker et al. Sputum RNA signature in allergic asthmatics following allergen bronchoprovocation test. Eur Clin Respir J. 2016. 3:31324).

[00398] Конечные точки в данном исследовании разработаны для изучения эффекта от лечения с применением REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении экспрессии воспалительных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа. Кроме того, уровни мРНК в мокроте анализируют для оценки более широкого профиля экспрессии генов, который включает гены, ассоциированные с воспалением 1 и 2 типов, и гены, которые отражают изменение клеточного состава.

Цитокины и хемокины в мокроте

[00399] Предыдущие исследования показали, что уровень цитокинов и хемокинов можно измерять в мокроте, индуцированной после BAC. Хотя величина эффекта изменений, наблюдаемых в предыдущих исследованиях, показала, что измерение генных сигнатур мРНК может превосходить такие для сигнатур белка, в данном исследовании отбирают образцы для оценки белка цитокинов и хемокинов в качестве исследовательской конечной точки. Ожидается, что цитокины и хемокины, связанные с обоими из сигнальных путей IL-33 и IL4R, в том числе IL-13, IL-5, фактор некроза опухоли альфа (TNFα), TARC, легочный хемокин, регулируемый активацией (PARC) и эотаксин-3, будут повышены после BAC. Ожидается, что данное повышение уровня цитокинов и хемокинов ослабляется за счет лечения с применением REGN3500 и/или дупилумаба.

Снижение FEV1 на ранней и поздней фазах после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном

[00400] Изменение легочной функции после BAC представляет собой стандартную конечную точку для большинства исследований с использованием провокационной пробы с аллергеном, в ходе которых оценивают эффект ингаляционных кортикостероидов. У сенсибилизированных пациентов вдыхание аллергена приводит к острой ответной реакции, характеризующейся бронхоспазмом, в пределах периода от 0 до 2 часов после воздействия, которая называется ранней ответной реакцией на аллерген (EAR). Считается, что данная EAR преимущественно представляет собой высвобождение предварительно

образованных медиаторов из тучных клеток и, как правило, не характеризуется восприимчивостью к стероиду. За ранней ответной реакцией на аллерген часто следует поздняя ответная реакция на аллерген (LAR), которая возникает по прошествии от примерно 3 до 8 часов после воздействия. Данная LAR наблюдается у 50-60% взрослых пациентов с астмой, однако потребуется ее наличие у всех пациентов для их включение в данное исследование. LAR совпадает с начальным притоком воспалительных клеток и, как правило, характеризуется восприимчивостью к стероиду.

[00401] Сообщается, что воспроизводимость данных конечных точек FEV1 является достаточной, чтобы демонстрировать примерно 50% ослабление EAR и/или LAR с мощностью > 90%, если в дизайне перекрестного исследования задействовано 12 пациентов. Для данного исследования с параллельными группами цель заключается в оценке изменений генных сигнатур в мокроте, которые отражают изменение воспалительного стимула, что в конечном итоге приводит к изменениям в FEV1.

Результаты измерения фракции оксида азота в выдыхаемом воздухе

[00402] В ходе BAC было показано, что уровень эозинофилов в мокроте повышается у пациентов с астмой, которые демонстрируют наличие поздней фазы ответной реакции. Несмотря на сообщения относительно взаимосвязи эозинофилов в мокроте и FeNO, FeNO не является маркером, специфичным для эозинофилов, и может иметь место при неэозинофильном воспалении (Haldar et al. Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. N Engl J Med. 2009. 360:973-984.). Сильная корреляция между уровнями FeNO на исходном уровне и ответом на REGN3500 и/или дупилумаб, что оценивали по изменениям уровней мРНК генов 1 типа и 2 типа, будет обосновывать использование FeNO, относительно простого и недорогого метода, в качестве PD-биомаркера для чувствительных пациентов для будущих исследований.

Статистический анализ

[00403] Исследование характеризуется мощностью для первичной конечной точки, представляющей собой подавление экспрессии мРНК IL-13, IL-5 и ST2 в мокроте активным средством лечения (в отличие от плацебо), но не изменение LAR, которое исходно являлось первичной конечной точкой для испытаний с использованием BAC (обычно ~20 пациентов на группу лечения). Шесть пациентов на группу лечения обеспечивают > 99% мощности на 2-стороннем уровне значимости 0,05 для определения изменения уровней экспрессии генов IL-5 и IL-13, что является эквивалентным изменению, наблюдаемому с ингаляционными кортикостероидами (максимальная наблюдаемая величина эффекта, составляющая 3,7, на основании различия в лечении по сравнению с плацебо). Для гарантии того, что образец мокроты будет получен после BAC и будет пригодным для измерения мРНК, в 1 часть исследования могут быть включены примерно 8 пациентов на группу лечения.

[00404] Конечные точки эффективности будут проанализированы с использованием популяции для полного анализа (FAS). Для 1 части исследования FAS включает всех рандомизированных пациентов и основана на назначенном лечении (в

соответствии с рандомизацией).

[00405] Популяция для анализа безопасности: популяция для анализа безопасности (SAF) включает всех рандомизированных пациентов, которые получили по меньшей мере 1 дозу исследуемого лекарственного препарата. Пациентов будут анализировать как фактически получавших лечение. Все анализы безопасности обобщают на основании SAF.

[00406] Популяция для фармакокинетического анализа: популяция для PK-анализа включает всех леченных пациентов, которые получали любое исследуемое лекарственное средство и у которых был получен по меньшей мере 1 PK-результат, не являющийся отсутствующим, после введения дозы с последующим введением исследуемого лекарственного средства.

[00407] Популяция для анализа антител к лекарственному средству (ADA): популяция ADA включает всех пациентов, получавших лечение, которые получали любое исследуемое лекарственное средство и у которых был выявлен по меньшей мере 1 результат ADA, не являющийся отсутствующим, после первой дозы исследуемого лекарственного средства.

Статистические методы

[00408] Для непрерывных переменных описательная статистика включает следующую информацию: количество пациентов, отраженное в расчетах (n), среднее значение, медианное значение, стандартное отклонение, Q1, Q3, минимум и максимум. Для категориальных или порядковых данных значения частоты и процентной доли показаны для каждой категории.

[00409] Для распределения пациентов будет предоставлено следующее: общее количество пациентов, подвергнутых скринингу: отвечавшие критериям включения в отношении целевого показания и подписавшие ICF; общее количество рандомизированных пациентов: получившие рандомизационный номер; общее количество пациентов в каждой анализируемой популяции; общее количество пациентов, которые прекратили участие в исследовании, и причины прекращения; перечень пациентов, получавших лечение, но не рандомизированных, рандомизированных пациентов, но не получавших лечение, и рандомизированных пациентов, но не получавших лечение в соответствии с рандомизацией; и перечень пациентов, досрочно прекративших лечение, наряду с причинами прекращения.

[00410] Демографические и исходные характеристики описательно обобщают по группе лечения и посредством объединения всех пациентов.

[00411] Анализ основных параметров эффективности: для каждого отдельного пациента в исследовании при скрининге и в день 29 проводят BAC с применением HDM. Кратность изменения уровня индуцированной мРНК IL-13 от значений до проведения BAC получают через 8 часов и 24 часа после провокационной пробы (при скрининге и в день 29). Для каждого пациента вычисляют разницу между кратностью изменения от значений до BAC при скрининге и кратностью изменения от значений до BAC в день 29 (8 часов и 24 часа). Данные по кратности изменения от исходного уровня между скринингом

и визитом в день 29 сравнивают между группами REGN3500, дупилумаба, комбинации REGN3500 и дупилумаба и плацебо. Кроме того, оценивают эффект REGN3500 в отношении более широкой сигнатуры аллергена 2 типа. Разницу кратности изменения уровней экспрессии мРНК анализируют отдельно с использованием модели ковариационного анализа (ANCOVA). Описательную статистику также предоставляют по средству лечения и временной точке на основании уровней мРНК и кратностей изменения от исходного уровня.

[00412] Анализ дополнительных параметров эффективности: для конечных точек, основанных на экспрессии генов, для непрерывных переменных эффективности используют тот же метод анализа, что и для анализа основных параметров. Фармакокинетические параметры REGN3500 обобщают с помощью среднего арифметического значения, SD, коэффициента вариации (CV, в %), минимума, Q1, медианного значения, Q3, максимум и количества наблюдений.

[00413] Анализ безопасности: соблюдение режима лечения/введение средства лечения и все клинические переменные безопасности анализируют с применением SAF. Анализ безопасности основан на SAF. Он включает отмеченные TEAE и другую информацию по безопасности (т. е. клинические лабораторные исследования, показатели жизненно важных функций и результаты ЭКГ в 12 отведениях). Обобщенные результаты оценки безопасности представляют по каждой группе лечения. Для переменных безопасности определены 3 периода наблюдения: период до лечения определяют как промежуток времени от подписания ICF до момента перед введением первой дозы исследуемого лекарственного средства. Период лечения определяют как день от введения первой дозы исследуемого лекарственного средства до введения последней дозы исследуемого лекарственного средства+7 дней. Период после лечения определяют как промежуток времени после введения последней дозы исследуемого лекарственного средства+7 дней. Нежелательные явления, возникшие во время лечения (TEAE), определяют как явления, которые отсутствуют на исходном уровне или представляют собой обострение уже существующего состояния во время периода лечения.

[00414] Показатели жизненно важных функций: показатели жизненно важных функций (температура, пульс, кровяное давление и частота дыхания) обобщают в виде исходного уровня и изменения от исходного уровня до каждого запланированного времени оценки с помощью описательной статистики.

[00415] Лабораторные анализы: результаты лабораторных анализов обобщают в виде исходного уровня и изменения от исходного уровня до каждого запланированного времени оценки с помощью описательной статистики. Количество и процентную долю пациентов с потенциально клинически значимым значением (PCSV) в любой временной точке после рандомизации обобщают для каждого клинического лабораторного анализа. Для представления результатов лабораторных анализов, представляющих интерес, можно использовать таблицы сдвигов, основанные на исходной нормальной/отклоняющейся от нормальных показателей оценке, а также другие табличные и графические методы.

[00416] Воздействие средства лечения: продолжительность воздействия в ходе исследования представляют по группе лечения (объединенной с плацебо) и рассчитывают как: (дата последней инъекции исследуемого лекарственного средства - дата первой инъекции исследуемого лекарственного средства) + 7. Количество (%) пациентов, рандомизированных и подвергнутых воздействию исследуемого лекарственного средства в режиме двойного заслепления, представляют по конкретным периодам времени по каждой группе лечения. Кроме того, продолжительность воздействия в ходе исследования обобщают по каждой группе лечения с использованием количества пациентов, среднего значения, SD, минимума, Q1, медианного значения, Q3 и максимума.

[00417] Соблюдение режима лечения: показатель соблюдения режима лечения с применением экспериментального продукта, определенного протоколом, рассчитывают следующим образом: соблюдение режима лечения=(количество инъекций экспериментального продукта во время периода воздействия) / (количество запланированных инъекций экспериментального продукта во время периода воздействия) x 100%. Соблюдение режима лечения представляют по конкретным диапазонам по каждой группе лечения в 1 части исследования.

[00418] Данные анализа концентрации лекарственного средства: концентрацию лекарственного средства и общие целевые концентрации в каждый момент отбора образцов обобщают с применением описательной статистики. Обобщенные данные для концентрации лекарственного средства и общих целевых концентраций представляют по номинальной временной точке (т. е. временным точкам, указанным в протоколе). Графики концентраций REGN3500 и общего IL-33 представлены с течением времени (линейные и логарифмические шкалы). Если шкала линейная, концентрации ниже нижнего предела количественного определения (LLOQ) приняты за ноль. На фигурах с логарифмической шкалой концентрации ниже LLOQ заменены на LLOQ/2.

[00419] Данные анализа антител к лекарственному средству: частоту возникновения положительной реакции в анализе ADA для REGN3500 и/или дупилумаба оценивают как абсолютную величину возникновения (n) и процентную долю пациентов (%) по группам. Перечень всех уровней титров ADA представляют для пациентов с положительным результатом анализа ADA для REGN3500 и/или дупилумаба. Могут оцениваться графики концентраций функционального REGN3500 и может быть проведена оценка потенциального влияния ADA на отдельные профили зависимости концентрация-время. Может быть исследована оценка потенциального влияния ADA для REGN3500 и/или дупилумаба на безопасность и эффективность.

[00420] Данные анализа фармакодинамики и биомаркеров: фармакодинамические эффекты REGN3500, дупилумаба и REGN3500 и дупилумаба в отношении результатов измерения экспрессии генов в мокроте (мРНК) обобщают в виде средних значений log2 кратности изменений (FCH) (SD, Q1, Q2, SEM, минимум, максимум и число наблюдений) уровня экспрессии генов цитокинов, нормализованным по уровню экспрессии конститутивного гена. Изменения экспрессии генов оценивают как изменение после

провокационной пробы с ингаляцией аллергена, а также изменение с течением времени от исходного уровня до лечения. Значения повышения экспрессии генов цитокинов после провокационных проб с ингаляцией аллергена на 4 неделе и 8 неделе сравнивают с уровнями до введения доз для изучения потенциальных смягчающих эффектов REGN3500, дупилумаба или комбинации REGN3500 и дупилумаба по сравнению с плацебо. Фармакодинамические эффекты REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба в отношении FEV1 обобщают в виде измеренных значений (SD, Q1, Q3, SEM, минимум, среднее значение, медианное значение, максимум и количество наблюдений), процентного изменения от исходного уровня (SD, Q1, Q3, SEM, минимум, среднее значение, медианное значение, максимум и количество наблюдений) в день 29 (FEV1 в клинических условиях). Фармакодинамические параметры (циркулирующие в крови маркеры и FeNO) REGN3500, дупилумаба и комбинации REGN3500 и дупилумаба обобщают по измеренным значениям (SD, Q1, Q3, SEM, минимум, среднее значение, медианное значение, максимум и количество наблюдений), изменению от исходного уровня (SD, Q1, Q3, SEM, минимум, среднее значение, медианное значение, максимум и количество наблюдений) и процентному изменению от исходного уровня (SD, Q1, Q3, SEM, минимум, среднее значение, медианное значение, максимум и количество наблюдений). Выполняют корреляционные анализы между исходной концентрацией IL-33 и другими исходными биомаркерами (кальцитонином, sST2 и MMP12, TARC, PARC, эотаксином-3 и FeNO). Для каждого корреляционного анализа представлена диаграмма рассеяния с корреляцией Пирсона или Спирмена.

[00421] Соглашения по обработке дополнительных статистических данных: определение исходного уровня. Если не указано иное, оценка исходного уровня для всех измерений представляет собой самое последнее достоверное измерение, выполненное до введения исследуемого лекарственного средства. Для большинства переменных процедуры и оценки в день 1 считаются исходным уровнем.

[00422] Общие правила обработки отсутствующих данных: если ниже не указано иное, отсутствующие значения для образцов или концентрации не заменяют, а оставляют как отсутствующие при расчете полученных PK-параметров. Если отсутствует время фактического отбора образцов, но достоверное значение концентрации было измерено, то для расчета полученных PK-параметров может быть использовано запланированное время из протокола. Отсутствующим значениям до введения дозы при п/к введении задают значение 0 для расчетов PK-параметров. Если дата возникновения AE или приема сопутствующего лекарственного препарата является неполной или отсутствует, будет считаться, что они возникли во время или после приема исследуемого лекарственного препарата за исключением случаев, если неполная дата (например, месяц и год) четко указывает на возникновение явления до лечения. Если частичная дата указывает на месяц или год, совпадающий с датой приема исследуемого лекарственного препарата, то дату начала заменяют датой приема исследуемого лекарственного препарата; в ином случае отсутствующий день или месяц заменяют первым днем или первым месяцем. Замену

отсутствующих данных лабораторных анализов, данных ЭКГ, данных жизненно важных функций или данных физикального обследования не осуществляют. Оценки, выполняемые вне допустимых окон в протоколе, будут показаны в соответствии с оценкой CRF, регистрируемой исследователем. Дополнительные оценки (данные лабораторных анализов или показатели жизненно важных функций, связанные с визитами в клинику вне протокола или полученные в ходе курса исследования или контроля AE) включают в перечни, но не в обобщенные данные. Если для указанного визита доступно более одного лабораторного значения, первое наблюдение используют в обобщенных данных и все наблюдения представляют в перечнях.

Результаты

[00423] Лечение с применением REGN3500 и дупилумаба в режиме монотерапии значительно подавляло индуцируемую аллергеном сигнатуру эозинофилов и более широкую сигнатуру, связанную с воспалением 2 типа, включающую CCL26, CCL17 и SIGLEC8. Многие из генов, подавляемых REGN3500, также подавлялись дупилумабом, хотя и с разной силой. Несколько генов подавлялись только в одной из групп, что позволяет сделать предположение о том, что две молекулы регулируют как перекрывающиеся, так и отдельные пути. Комбинация обеих молекул обеспечивала подавление воспаления 2 типа, аналогичное такому подавлению, наблюдаемому при использовании средств в режиме монотерапии.

[00424] На **фиг. 5** представлены данные, показывающие, что лечение с применением REGN3500 снижало воспаление в модели хронического воспаления легких с использованием клеща домашней пыли (HDM). Лечение с применением REGN3500 подавляло провоспалительные цитокины и хемокины. Представленные результаты были основаны на данных, показывающих уровни эозинофилов в легких и нейтрофилов в легких в модели HDM с лечением и без лечения антителом к IL-33. Другие представленные данные включают тепловую карту панели генов легочных цитокинов, показывающую уровни hIL-4, IL-5, IL-1b, TNFα, IFNg, GROa и MCP-1. Также выполняли анализ альвеолярного SMA.

[00425] Анализ молекулярной сигнатуры провокационной пробы с бронхиальным аллергеном в мокроте показан на **фиг. 8**, на которой изображена экспрессия различных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, до проведения провокационной пробы с аллергеном, через 8 часов после проведения провокационной пробы с аллергеном и через 24 часа после проведения провокационной пробы с аллергеном. Ключевые гены, индуцируемые провокационной пробой с бронхиальным аллергеном при скрининге, характеризовались повышением уровня генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, включая IL-4, IL-5, IL-13, IL-9, IL1RL1 (рецептор IL-33), Eot-3 (CCL26), TARC (CCL17) и FCER2.

[00426] Анализ подавления посредством REGN3500 различных генов, индуцируемых провокационной пробой с аллергеном, показан на **фиг. 9**, на которой показано, что различные гены цитокинов и хемокинов, связанных с воспалением 2 типа,

которые были индуцированы провокационной пробой с бронхиальным аллергеном, подавлялись посредством REGN3500, включая IL-5, IL-13, Eot-3 (CCL26) и TARC (CCL17). Другие гены, подавляемые с помощью REGN3500 и индуцируемые посредством провокационной пробы с бронхиальным аллергеном, включали CCL1 (лиганд для CCR8, который привлекает активированные клетки типа Th2 и Treg), CCL26, FCER2, SIGLEC8 и CCL17.

[00427] Генная сигнатура, используемая для оценки эффектов лечения в отношении эозинофилов в мокроте, представлена на **фиг. 10**. Совокупность из 10 генов показывала высокую степень корреляции с содержанием эозинофилов в мокроте как до, так и после провокационной пробы с аллергеном. Данные гены включали ADARB1, ASB2, CLC, GLOD5, HDC, IL1RL1, PTPN7, SIGLEC8, SYNE1 и VSTM1. Данные гены не являются исключительными для эозинофилов, например, SIGLEC8 экспрессируется в эозинофилах, базофилах и тучных клетках; HDC экспрессируется в тучных клетках и VSTM1 экспрессируется в миелоидных клетках.

[00428] На **фиг. 11** показано, что лечение с применением REGN3500 подавляло в мокроте сигнатурные гены эозинофилов. Представлены данные по ADARB1, ASB2, CLC, HDC, IL1RL1, PTPN7, SIGLEC8, SYNE1 и VSTM1. Не выявляли эффекты в отношении сигнатурных генов нейтрофилов, опосредованные лечением посредством антитела к IL-33 (REGN3500).

[00429] На **фиг. 12** показано, что лечение с применением REGN3500 подавляло в мокроте сигнатурные гены, связанные с воспалением 2 типа. Представлены данные по IL-4, IL-13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL-5 и IL-9. На **фиг. 12** также показано, что сигнатурные гены, ассоциированные с воспалением 1 типа, не были индуцированы провокационной пробой с аллергеном.

[00430] Суммарные данные на **фиг. 8-12** показывают, что снижение уровня эозинофилов в крови представляло собой постоянный фармакодинамический эффект антитела к IL-33. Не выявляли снижения уровня нейтрофилов, опосредованного антителом к IL-33. Кроме того, не наблюдали снижения уровня других циркулирующих в крови медиаторов, связанных с воспалением 2 типа, обусловленного антителом к IL-33.

[00431] На **фиг. 14** показано, что как дупилумаб, так и REGN3500 были способны снижать показатели для генной сигнатуры для эозинофилов после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Комбинированное лечение дупилумабом и REGN3500 представляло собой наиболее эффективное лечение в отношении снижения показателей генной сигнатуры для эозинофилов после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. На **фиг. 14** изображены показатели для генной сигнатуры для эозинофилов между группами лечения. Группы включают таковые, которые получают плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированную терапию дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты, полученные до и после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном.

[00432] На **фиг. 15** показан более низкий уровень снижения показателей сигнатуры

2 типа в группе лечения REGN3500 по сравнению с группой лечения флутиказоном. На **фиг. 15** изображены показатели сигнатуры для воспаления 2 типа между группами лечения. Группы включают таковые, которые получают плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированную терапию дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты до и после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном.

[00433] На **фиг. 16** представлены данные, показывающие гены, на которые оказывают влияние различные группы лечения, через 8 и 24 часа после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. На **фиг. 16** изображены гены, на которые оказывает влияние плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированная терапия дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты, полученные при скрининге и при лечении, которое осуществляют после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном. Тестируемые гены включают сверху вниз BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH.

[00434] На **фиг. 17** сверху вниз показано, что ключевыми генами, индуцируемыми провокационной пробой с бронхиальным аллергеном во временной точке 24 часа и подавляемыми REGN3500, были ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3. На **фиг. 17** изображены гены, на которые оказывает влияние плацебо, флутиказон, дупилумаб, REGN3500 и комбинированная терапия дупилумабом и REGN3500. Представлены результаты, полученные при скрининге и при лечении, которое осуществляют после провокационной пробы с бронхиальным аллергеном.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

2. Способ по п. 1, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

3. Способ по п. 1 или п. 2, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

4. Способ по любому из пп. 1-3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят внутривенно в дозе, составляющей 10 мг/кг.

5. Способ по любому из пп. 1-3, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг.

6. Способ по любому из пп. 1-3 или п. 5, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг или приблизительно 300 мг.

7. Способ по любому из пп. 1-3, п. 5 или п. 6, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

8. Способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

9. Способ по п. 8, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28.

10. Способ по п. 8 или п. 9, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент

предусматривают дупилумаб.

11. Способ по любому из пп. 8-10, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг.

12. Способ по любому из пп. 8-11, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг.

13. Способ по любому из пп. 8-11, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

14. Способ по любому из пп. 1-13, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент

вводят один раз в неделю (q1w), один раз в две недели (q2w), один раз в три недели (q3w) или один раз в четыре недели (q4w).

15. Способ по любому из пп. 1-14, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в две недели (q2w).

16. Способ по любому из пп. 1-3 и пп. 5-15, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно.

17. Способ по любому из пп. 1-3 и пп. 5-16, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно с применением автоинъектора, иглы и шприца или устройства для доставки в виде шприца-ручки.

18. Способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту

начальной дозы, составляющей приблизительно 600 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-4R (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26; и

одной или нескольких последующих доз, составляющих приблизительно 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

19. Способ по п. 18, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент

содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28.

20. Способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту

первого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи

(LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16; и

второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

21. Способ по п. 20, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

22. Способ по п. 20 или п. 21, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

23. Способ по любому из пп. 20-22, где второе антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28.

24. Способ по любому из пп. 20-23, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

25. Способ по любому из пп. 20-24, где второе антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент вводят в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг.

26. Способ по любому из пп. 20-25, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг.

27. Способ по любому из пп. 20-25, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в виде одной или нескольких последующих доз, составляющих приблизительно 300 мг антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

28. Способ по любому из пп. 20-27, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в неделю (q1w), один раз в две недели (q2w), один раз в три недели (q3w) или один раз в четыре недели (q4w).

29. Способ по любому из пп. 20-28, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят один раз в две недели (q2w).

30. Способ по любому из пп. 20-29, где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно.

31. Способ по любому из пп. 20-30, где второе антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно с применением автоинъектора, иглы и шприца или устройства для доставки в виде шприца-ручки.

32. Способ по любому из пп. 20-31, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в дозе, составляющей от приблизительно 0,1 мг до приблизительно 600 мг, от приблизительно 100 мг до приблизительно 400 мг или приблизительно 300 мг.

33. Способ по любому из пп. 20-32, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в начальной дозе, составляющей приблизительно 600 мг или приблизительно 300 мг.

34. Способ по любому из пп. 20-33, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят подкожно в виде одной или нескольких вторичных доз, составляющих приблизительно 300 мг.

35. Способ по любому из пп. 20-30, где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят внутривенно в дозе, составляющей 10 мг/кг.

36. Способ лечения аллергической астмы у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту

первого антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16,

где первое антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в однократной дозе, составляющей 10 мг/кг; и

второго антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26,

где второе антитело или его антигенсвязывающий фрагмент вводят в начальной дозе, составляющей 600 мг, и одной или нескольких последующих дозах, составляющих приблизительно 300 мг.

37. Способ по любому из предыдущих пунктов, где аллергическая астма представляет собой аллергическую астму легкой степени.

38. Способ по п. 37, где аллергическая астма представляет собой персистирующую аллергическую астму легкой степени.

39. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъект характеризуется аллергией к аллергену клеща домашней пыли (HDM).

40. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъект является некурящим.

41. Способ по любому из предыдущих пунктов, где субъект является клинически стабильным, и для контроля симптомов астмы ему требуется применение ингаляционного

β2-агониста короткого действия (SABA) по мере необходимости.

42. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается уровень потери контроля астмы (LOAC).

43. Способ по любому из предыдущих пунктов, где симптом астмы выбран из группы, состоящей из кашля, свистящего дыхания, а также у субъекта снижается уровень применения ингаляционного β2-агониста короткого действия.

44. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта улучшаются один или несколько ассоциированных с астмой параметров.

45. Способ по п. 44, где ассоциированный с астмой параметр выбран из группы, состоящей из объема форсированного выдоха за 1 секунду (FEV1), пиковой объемной скорости выдоха (PEF), форсированной жизненной емкости легких (FVC), форсированной объемной скорости выдоха (FEF) в интервале 25-75% и снижения частоты приема или дозы применяемого ингаляционного β2-агониста короткого действия у субъекта.

46. Способ по п. 45, где у субъекта улучшается параметр FEV1 до введения бронходилататора.

47. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижаются уровни эозинофилов в крови.

48. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта улучшаются один или оба из показателя по опроснику по контролю астмы в версии из 5 пунктов (ACQ-5) и показателя по опроснику по оценке качества жизни у больных астмой со стандартизованными видами деятельности (AQLQ).

49. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается частота приема или доза применяемого SABA.

50. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается воспаление легких, индуцированное провокационной пробой с бронхиальным аллергеном (BAC).

51. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается уровень цитокинов, связанных с воспалением 2 типа.

52. Способ по п. 51, где цитокин, связанный с воспалением 2 типа, представлен одним или обоими из IL-13 и IL-5.

53. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается уровень цитокина или уровень хемокина, при этом цитокин или хемокин выбраны из группы, состоящей из фактора некроза опухоли альфа (TNFα), хемокина, регулируемого тимусом и активацией (TARC), легочного хемокина, регулируемого активацией (PARC), CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

54. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижается выраженность ранней ответной реакции на аллерген (EAR) или поздней ответной реакции на аллерген (LAR).

55. Способ по любому из предыдущих пунктов, где параметр FEV1 улучшается у субъекта на по меньшей мере 20%, 30%, 40%, 50%, 60% или 70%.

55. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижаются уровни FeNO.

57. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или матриксной металлопротеиназы-12 (MMP12) в сыворотке крови.

58. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови.

59. Способ по любому из предыдущих пунктов, где у субъекта снижаются уровни ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL13, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, IL-13, IL-5, PTGDS или RD3 в сыворотке крови.

60. Способ снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

61. Способ по п. 60, где цитокин представлен одним или обоими из IL-13 и IL-5.

62. Способ по п. 60 или п. 61, где цитокин или хемокин выбраны из группы, состоящей из TNFα, TARC, PARC, CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

63. Способ по любому из пп. 60-62, где у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или MMP12 в сыворотке крови.

64. Способ по любому из пп. 60-63, где у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови.

65. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

66. Способ по п. 65, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B, HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH.

67. Способ по п. 65 или п. 66, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

68. Способ снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

69. Способ по п. 68, где сигнатурные гены, относящиеся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, GATA2, CCL26, FCER2, CACNG8, CLC, GATA1, LGALS12, SIGLEC8, GGT5, CCL17 и MMP10.

70. Способ по п. 68 или п. 69, где один или несколько сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, CCL26, FCER2, SIGLEC8, GGT5 и CCL17.

71. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

72. Способ по п. 71, где один или несколько один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, выбраны из группы, состоящей из IL1RL1, ADARB1, SIGLEC8, ASB2, VSTM1, SYNE1, CLC, PTPN7 и HDC.

73. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают интерлейкин-33 (IL-33) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие

SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

74. Способ по п. 73, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-4, IL-13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL-5 и IL-9.

75. Способ по любому из пп. 60-74, где антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 2, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 10.

76. Способ по любому из пп. 60-75, где антитело к IL-33 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 18, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 20.

77. Способ снижения уровня цитокина или уровня хемокина у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

78. Способ по п. 77, где цитокин представлен одним или обоими из IL-13 и IL-5.

79. Способ по п. 77 или п. 78, где цитокин или хемокин выбраны из группы, состоящей из TNFα, TARC, PARC, CCL1, CCL26, FCER2, SIGLEC8, CCL17 и эотаксина-3.

80. Способ по любому из пп. 77-79, где у субъекта снижаются уровни sST2, IL-33, кальцитонина или MMP12 в сыворотке крови.

81. Способ по любому из пп. 77-80, где у субъекта снижаются уровни CCL26, CCL17 или SIGLEC8 в сыворотке крови.

82. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

83. Способ по п. 82, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из BC042385, AB209315, LOC100607117, BC035084, LOC145474, AX747853, TIMP1, NT5DC2, LOC541471, AREG, PTPN7, RUNDC3, XXYLT1, FAM159A, PTGDS, TESC, ITGB2-AS1, D0574721, CLDN9, LOC100132052, AGAP7, NBEAL2, NTNG2, FLJ45445, KCNH3, POU51P3, OUG1, KIF21B,

HSPA7, GAPT, BX6485Q2, PRR52, P1K3R6, LTC4S, CLEC11A, TRABD2A, DLGAP3, VDR, DKFZp686M11215, SIGLEC12, BC016361, BC052769 и RHOH.

84. Способ по п. 82 или п. 83, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с аллергической астмой, выбраны из группы, состоящей из ASAP1-IT1, AX747757, BC042385, PABPC1P2, AB209315, AX748268, TCEAL5, CCL17, CCL13, CCL26, CLC, CACNG8, GPR82, GATA1, PRSS33, FFAR3, LGALS12, ASB2, PTGDR2, SIGLEC8, IL13, IL5, PTGDS и RD3.

85. Способ снижения уровня экспрессии любой комбинации сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам, связанным с воспалением 2 типа, и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

86. Способ по п. 85, где сигнатурные гены, относящиеся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, GATA2, CCL26, FCER2, CACNG8, CLC, GATA1, LGALS12, SIGLEC8, GGT5, CCL17 и MMP10.

87. Способ по п. 85 или п. 86, где один или несколько сигнатурных генов, относящихся к воспалительным цитокинам и хемокинам, связанным с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-5, CCL1, IL-13, CCL26, FCER2, SIGLEC8, GGT5 и CCL17.

88. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

89. Способ по п. 88, где один или несколько один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с эозинофилами, выбраны из группы, состоящей из IL1RL1, ADARB1, SIGLEC8, ASB2, VSTM1, SYNE1, CLC, PTPN7 и HDC.

90. Способ снижения уровня экспрессии одного или нескольких сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, у субъекта, у которого имеется аллергическая астма, включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают рецептор интерлейкина-4 (IL-4R) и содержат три последовательности определяющих

комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

91. Способ по п. 90, где один или несколько сигнатурных генов, ассоциированных с воспалением 2 типа, выбраны из группы, состоящей из IL-4, IL-13, CCL26, CCL13, CCL17, CCL11, POSTN, IL-5 и IL-9.

92. Способ по любому из пп. 77-91, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельный участок тяжелой цепи (HCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 27, и вариабельный участок легкой цепи (LCVR), содержащий аминокислотную последовательность под SEQ ID NO: 28.

93. Способ по любому из пп. 77-92, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент предусматривают дупилумаб.

94. Способ по любому из пп. 60-76, дополнительно включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-4R, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 21, 22 и 23, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 24, 25 и 26.

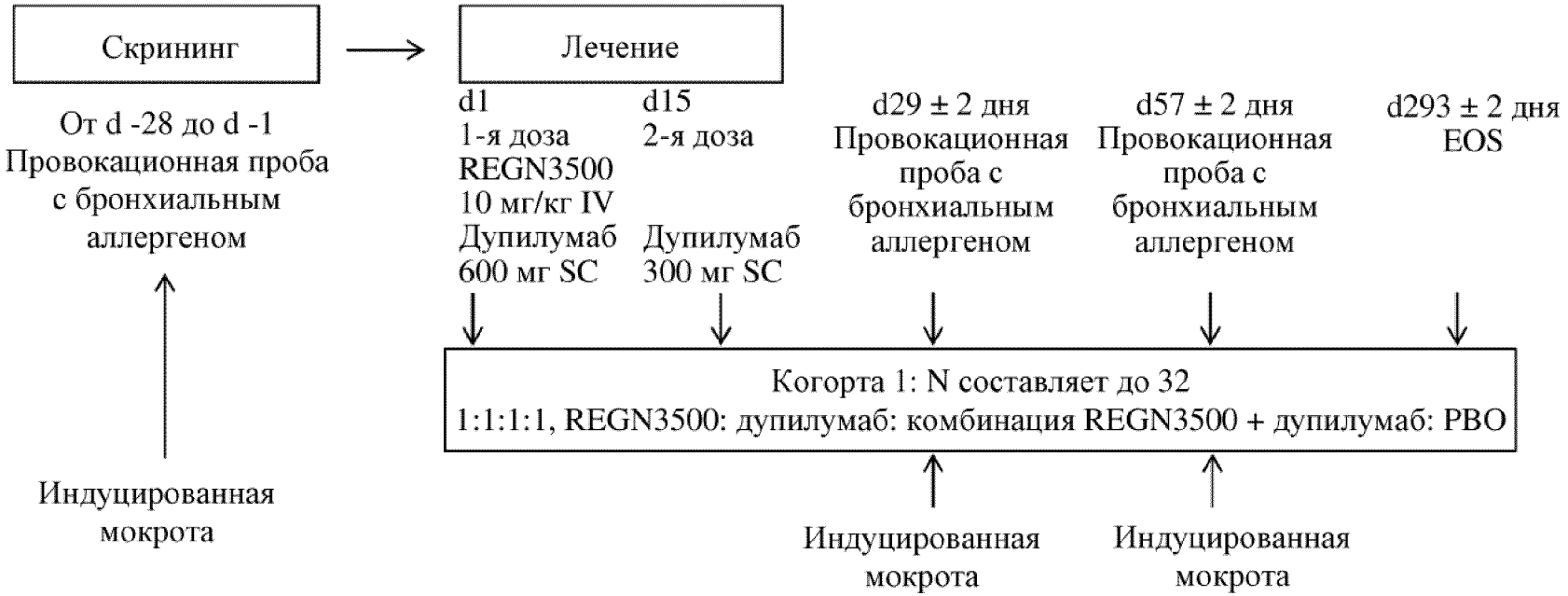
95. Способ по любому из пп. 77-93, дополнительно включающий введение субъекту антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, которые специфично связывают IL-33, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержат три последовательности определяющих комплементарность участков тяжелой цепи (HCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 4, 6 и 8, и три последовательности определяющих комплементарность участков легкой цепи (LCDR), предусматривающие SEQ ID NO: 12, 14 и 16.

По доверенности

Скрининговая ВАС
Лечение
Лечение
Неделя 4, ВАС после лечения
Неделя 8, ВАС после лечения
Исходный уровень
После ВАС 8 ч и/или 24 ч
Исходный уровень
После ВАС 8 ч и/или 24 ч
Исходный уровень
После ВАС 8 ч и/или 24 ч
Скрининговое изменение
Изменение на неделю 4
Изменение на неделю 8
Изменение от скрининга до недели 4
Изменение от скрининга до недели 8

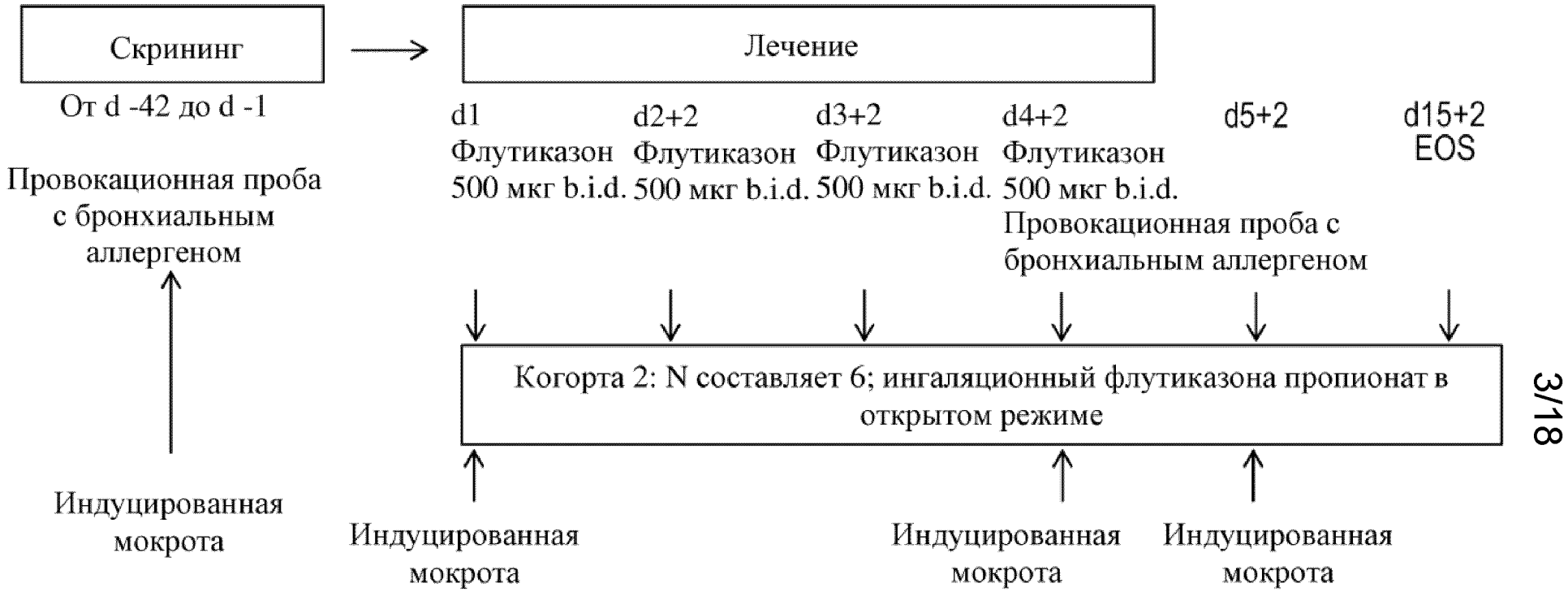
Фиг. 1

574634



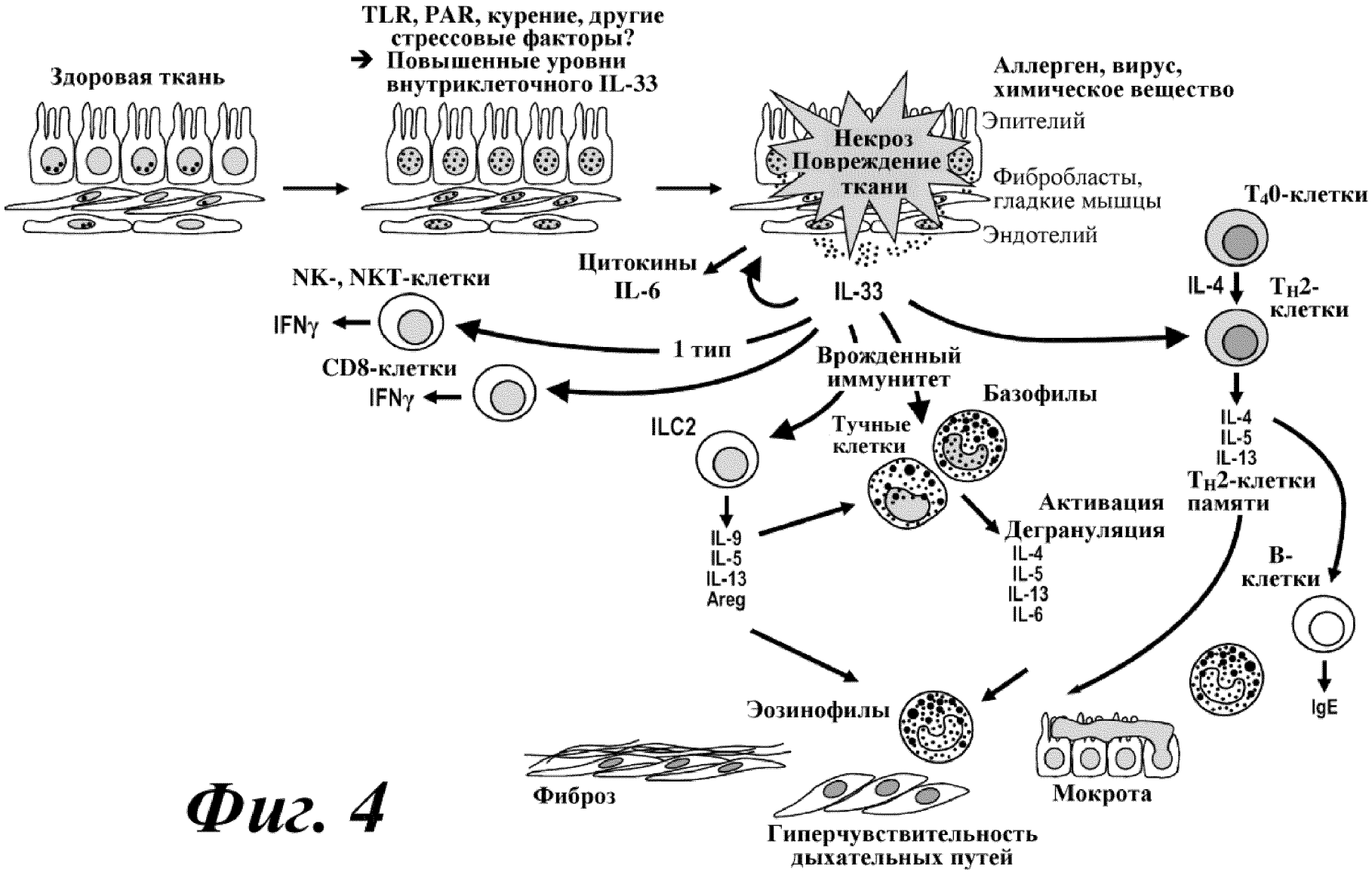
Примечание: d – день исследования; EOS – окончание исследования

Фиг. 2

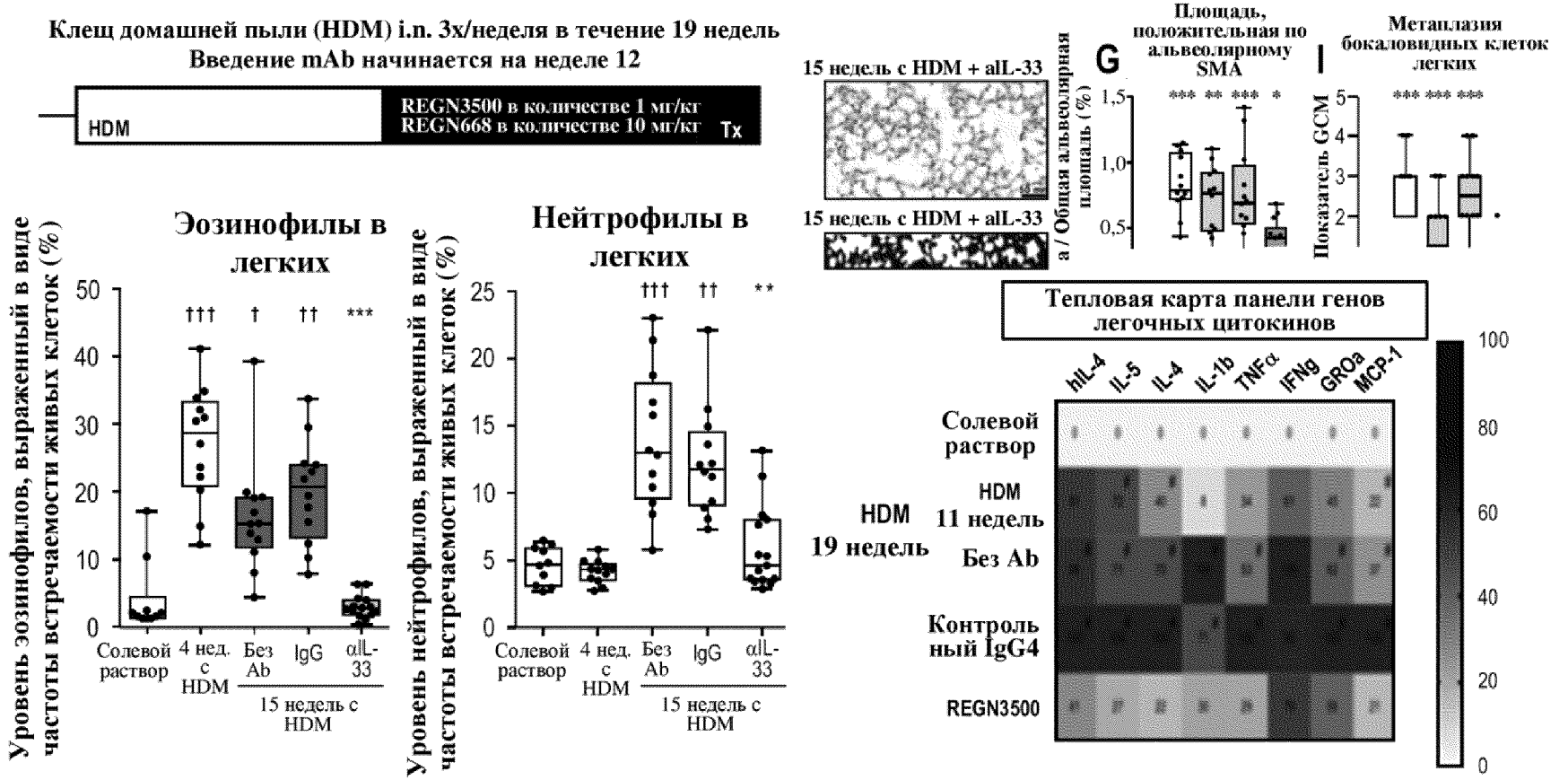


Примечание: d – день исследования; EOS – окончание исследования

Фиг. 3

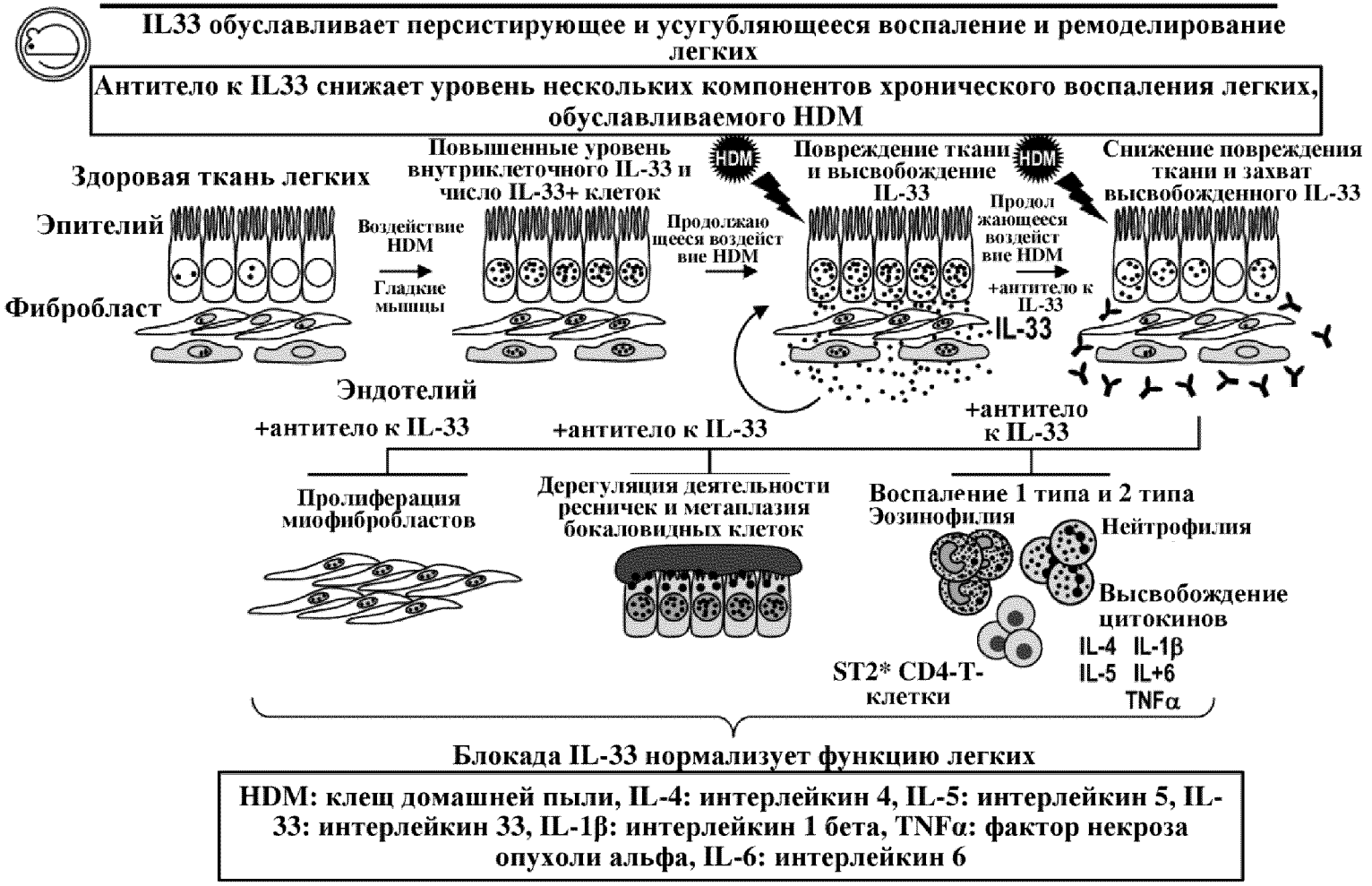

Здоровая ткань
TLR, PAR, курение, другие стрессовые факторы?
➔ Повышенные уровни внутриклеточного IL-33
Аллерген, вирус, химическое вещество
Некроз
Повреждение ткани
Эпителий
Фибробласты, гладкие мышцы
Эндотелий
Цитокины
IL-6
IL-33
NK-, NKT-клетки
IFNγ
1 тип
CD8-клетки
IFNγ
Врожденный иммунитет
ILC2
Тучные клетки
Базофилы
IL-9
IL-5
IL-13
Areg
Активация
Дегрануляция
IL-4
IL-5
IL-13
IL-6
T40-клетки
IL-4
TH2-клетки
IL-4
IL-5
IL-13
TH2-клетки памяти
B-клетки
IgE
Эозинофилы
Фиброз
Мокрота
Гиперчувствительность дыхательных путей

Фиг. 4


Клещ домашней пыли (HDM) i.n. 3x/неделя в течение 19 недель
Введение mAb начинается на неделе 12
HDM
REGN3500 в количестве 1 мг/кг
REGN668 в количестве 10 мг/кг
Tx
Эозинофилы в легких
Уровень эозинофилов, выраженный в виде частоты встречаемости живых клеток (%)
Солевой раствор
4 нед. с HDM
Без Ab
IgG
αIL-33
15 недель с HDM
Нейтрофилы в легких
Уровень нейтрофилов, выраженный в виде частоты встречаемости живых клеток (%)
15 недель с HDM + aIL-33
G
Площадь, положительная по альвеолярному SMA
a / Общая альвеолярная площадь (%)
I
Метаплазия бокаловидных клеток легких
Показатель GCM
Тепловая карта панели генов легочных цитокинов
hIL-4
IL-5
IL-4
IL-1b
TNFα
IFNg
GROa
MCP-1
Солевой раствор
HDM 11 недель
HDM 19 недель
Без Ab
Контрольный IgG4
REGN3500

Фиг. 5

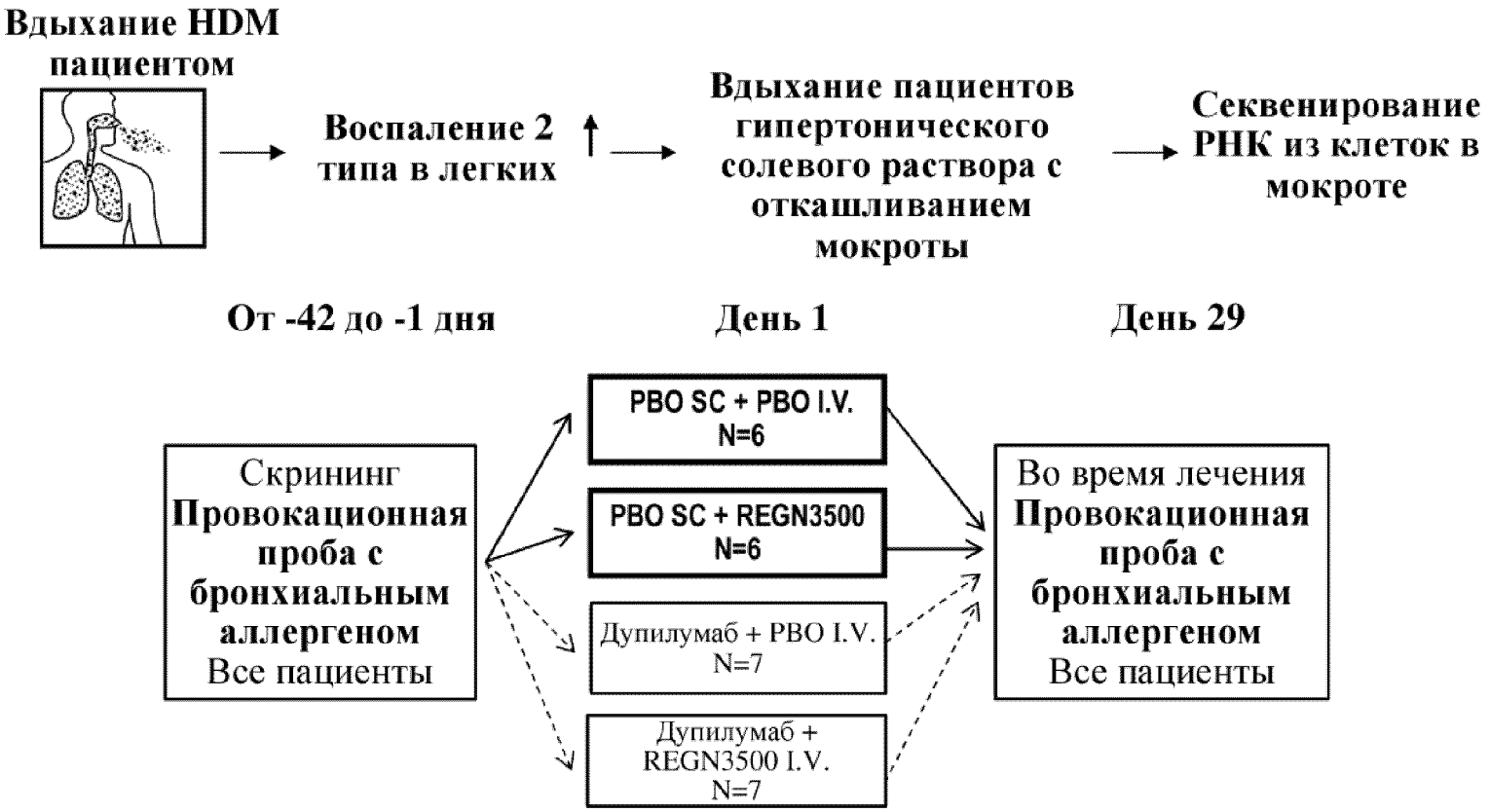
Антитело к IL33 снижает воспаление 1 типа/2 типа и метаплазию бокаловидных клеток, предупреждает пролиферацию фибробластов



Фиг. 6

ИССЛЕДОВАНИЕ С ПРОВОКАЦИОННОЙ ПРОБОЙ С БРОНХИАЛЬНЫМ АЛЛЕРГЕНОМ У ПАЦИЕНТОВ С АСТМОЙ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ

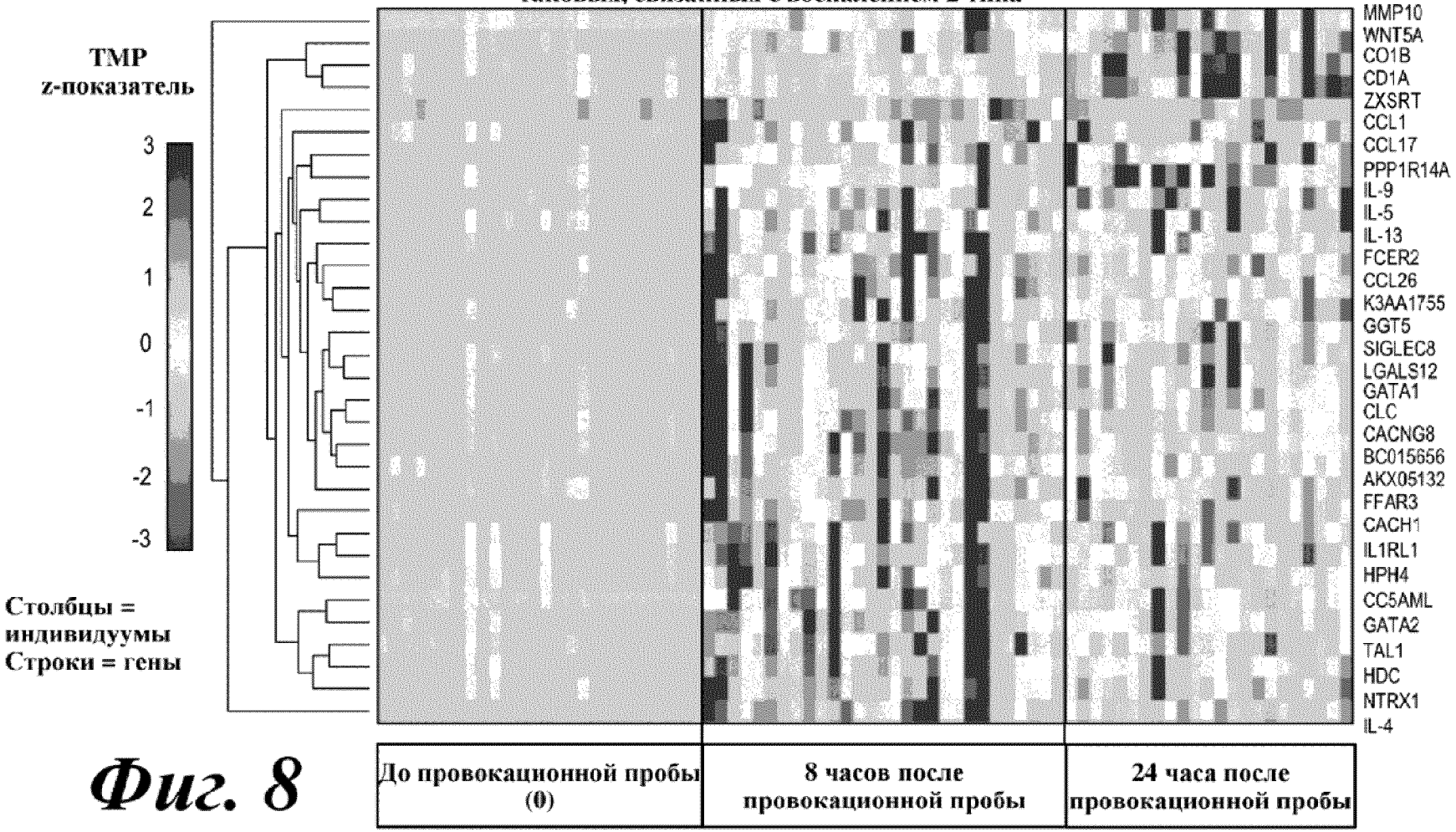
Схема исследования



Фиг. 7

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИГНАТУРЫ В МОКРОТЕ ПРИ ПРОВОКАЦИОННОЙ ПРОБЕ С АЛЛЕРГЕНОМ

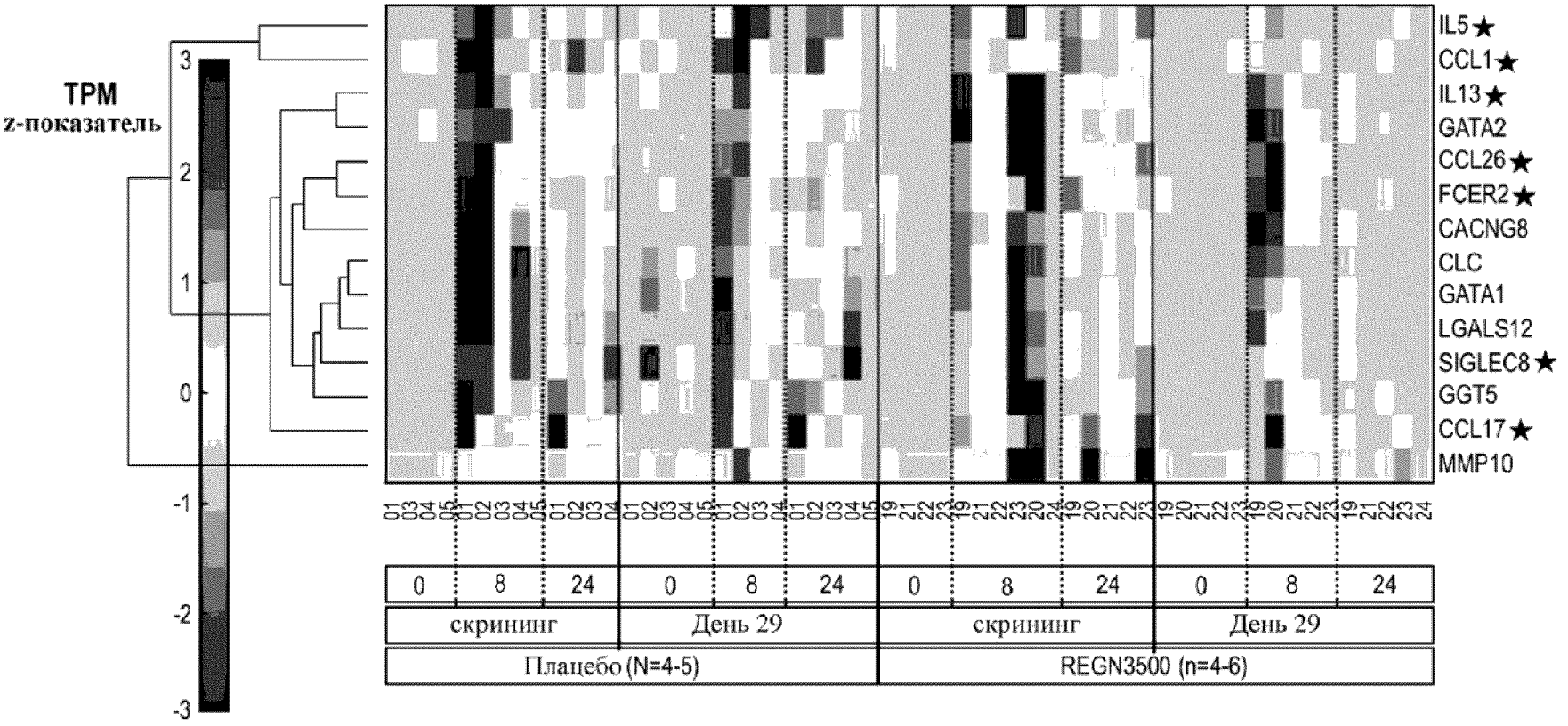
Ведущие гены, индуцированные провокационной пробой при скрининге, характеризуются повышением уровня таковых, связанных с воспалением 2 типа



Фиг. 8

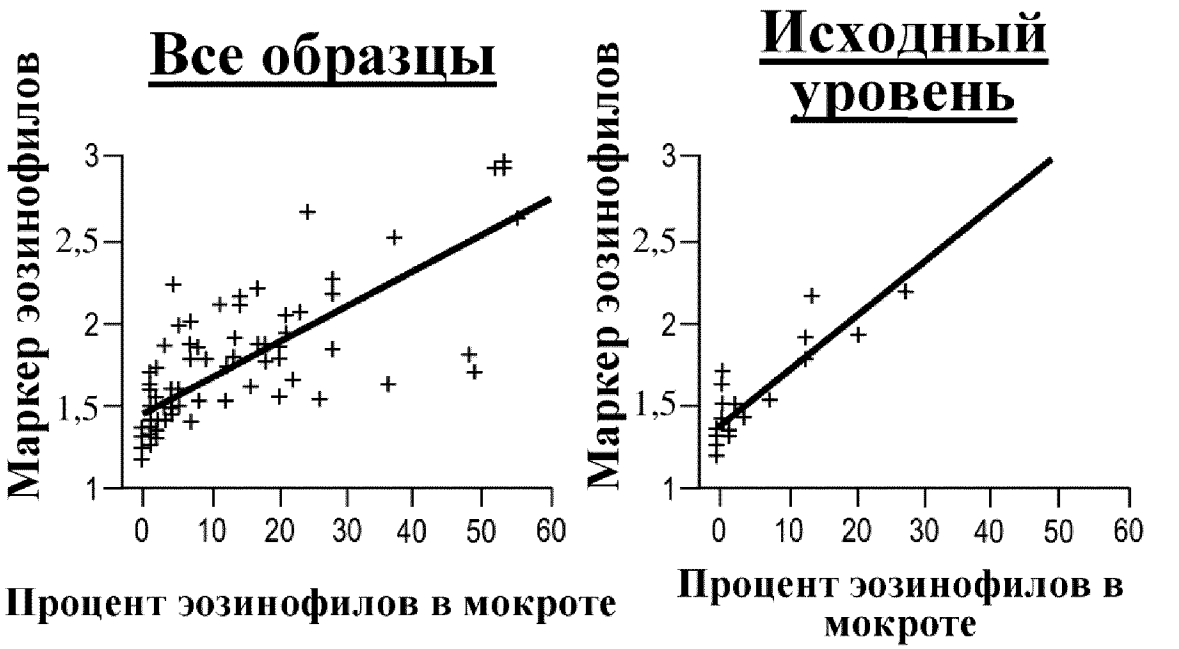
АНТИТЕЛО К IL33 ПОДАВЛЯЕТ ДЕЙСТВИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И ХЕМОКИНОВ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИХ ВОСПАЛЕНИЕ 2 ТИПА

В ТОМ ЧИСЛЕ IL-5, IL-13, TARC И ЭОТАКСИНА-3



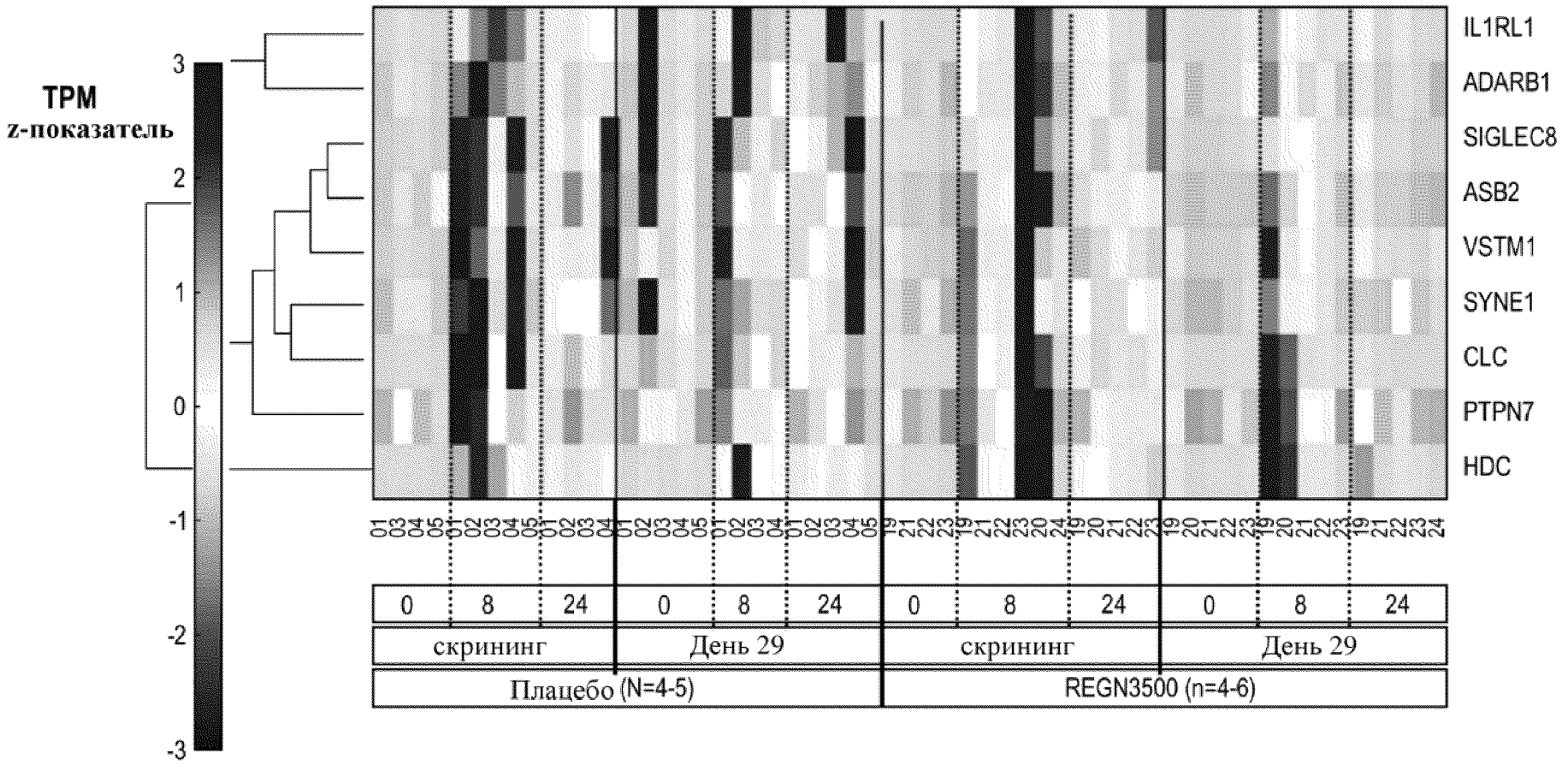
Фиг. 9

Символ гена	Название гена
ADARB1	Аденозиндезаминаза, РНК-специфическая, B1
ASB2	Белок 2, содержащий анкириновый повтор и SOCS-бокс
CLC	Белок кристаллов Шарко-Лейдена
GLOD5	Белок 5, содержащий домен глиоксалазы
HDC	Гистидиндекарбоксилаза
IL1RL1	Белок 1, подобный рецептору интерлейкина 1
PTPN7	Тирозиновая протеинфосфатаза нерецепторного типа 7
SIGLEC8	Ig-подобный лектин 8, связывающий сиаловую кислоту
SYNE1	Содержащий повтор спектрина белок ядерной оболочки 1
VSTM1	Содержащий V-комплекс и трансмембранный домен белок 1

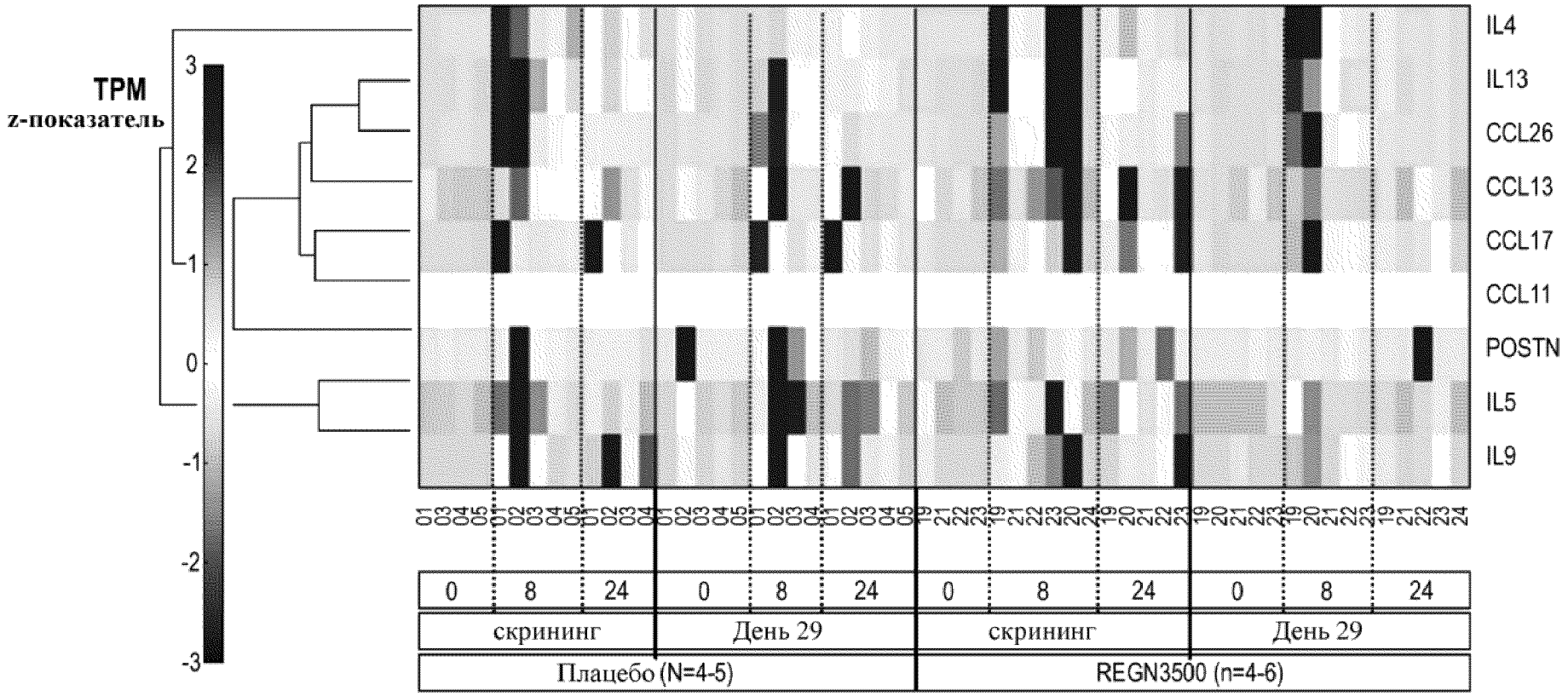


Коэффициент Пирсона 0,762 **Коэффициент Спирмена 0,826**	**Коэффициент Пирсона 0,867** **Коэффициент Спирмена 0,785**

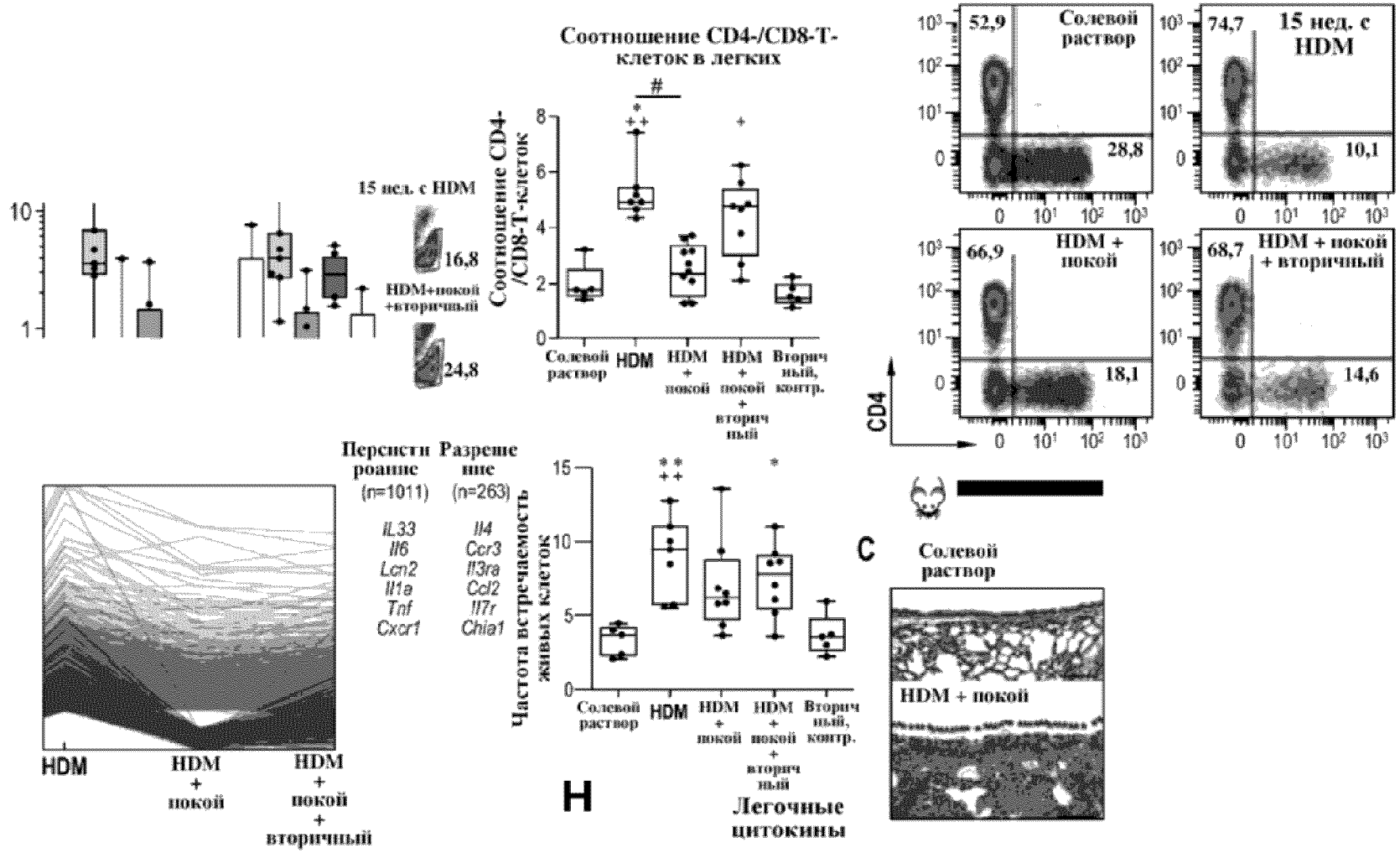
Фиг. 10


TPM
z-показатель
3
2
1
0
-1
-2
-3
IL1RL1
ADARB1
SIGLEC8
ASB2
VSTM1
SYNE1
CLC
PTPN7
HDC
0
8
24
скрининг
День 29
Плацебо (N=4-5)
REGN3500 (n=4-6)

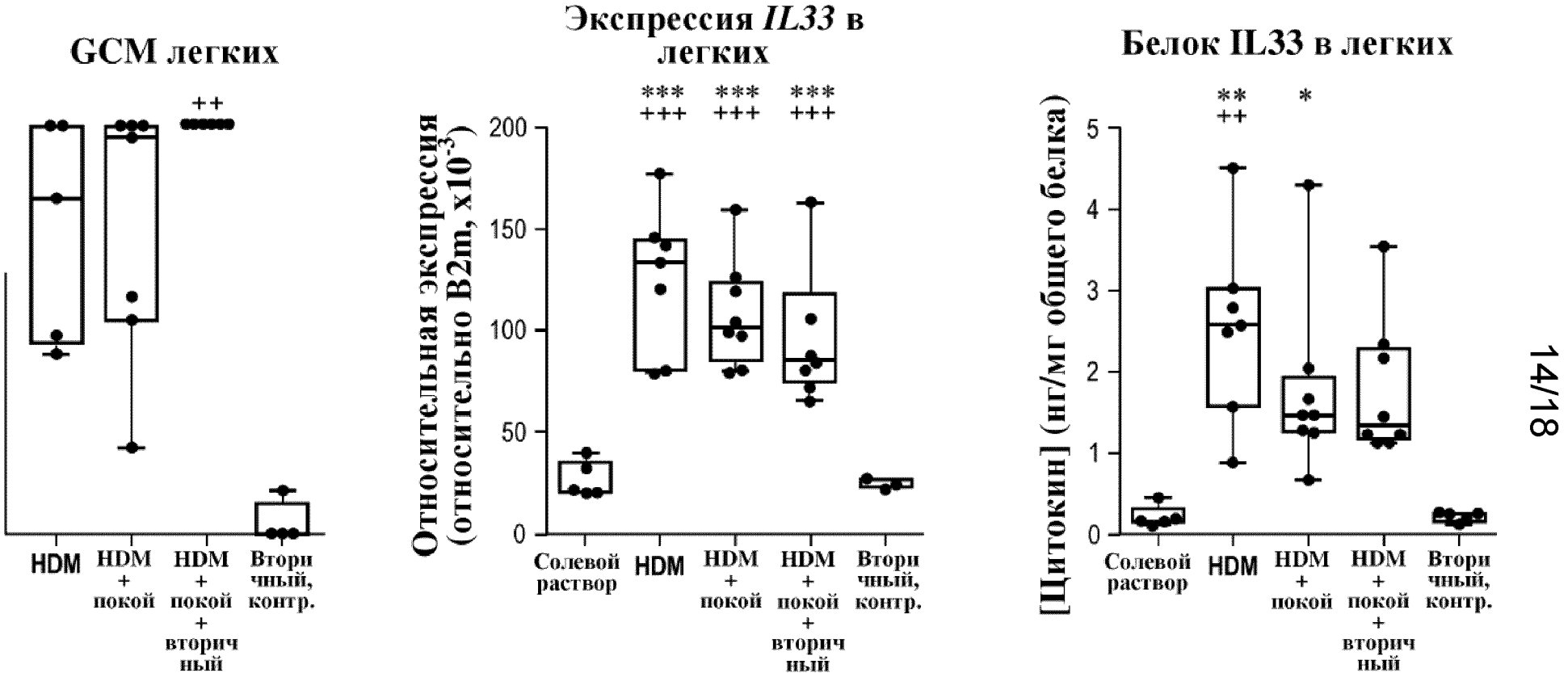
Фиг. 11


TPM
z-показатель
3
2
1
0
-1
-2
-3
IL4
IL13
CCL26
CCL13
CCL17
CCL11
POSTN
IL5
IL9
0
8
24
скрининг
День 29
Плацебо (N=4-5)
REGN3500 (n=4-6)

Фиг. 12

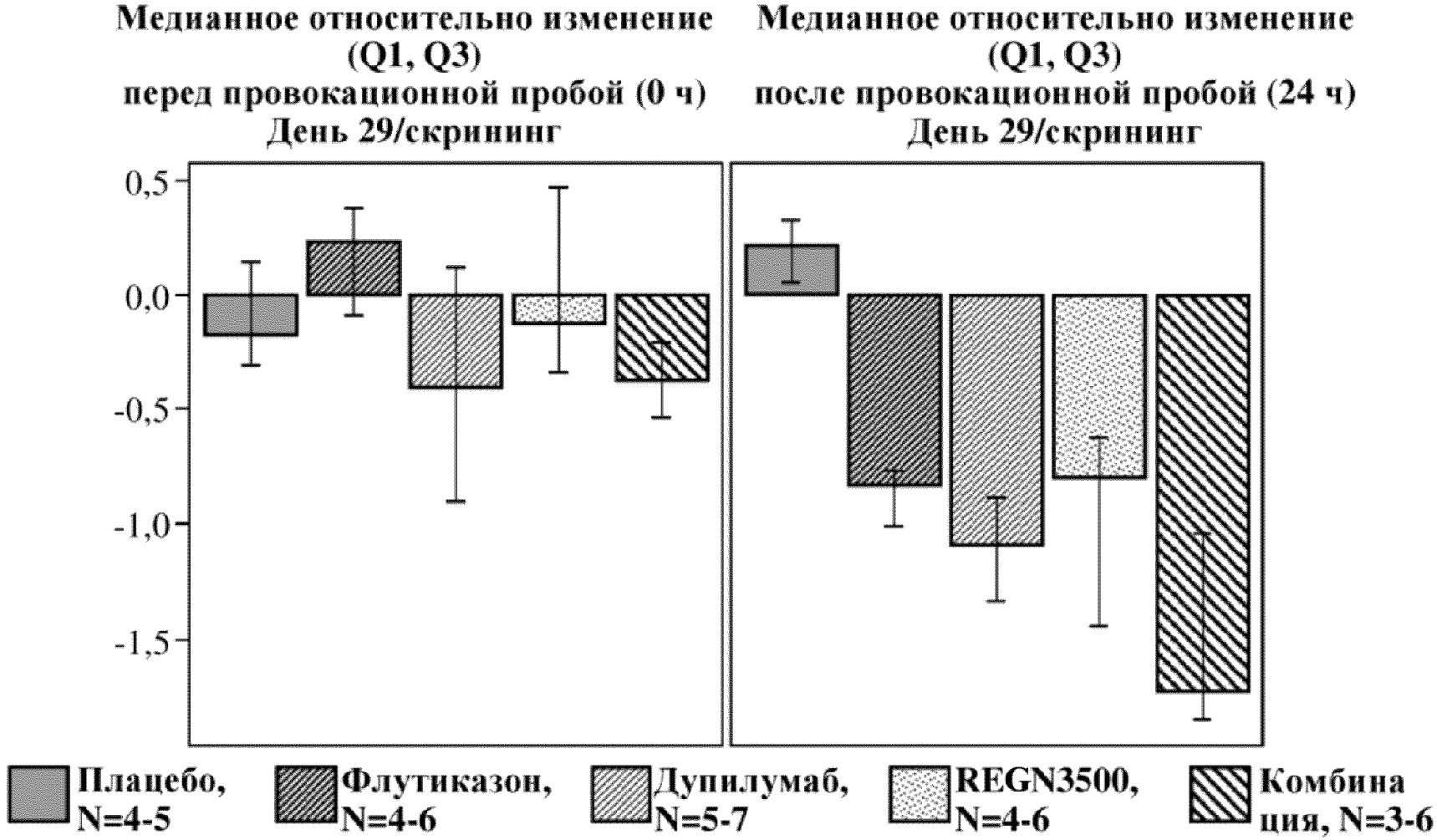

15 нед. с HDM
16,8
HDM+покой +вторичный
24,8
Соотношение CD4-/CD8-Т-клеток в легких
Соотношение CD4-/CD8-Т-клеток
Солевой раствор
HDM
HDM + покой
HDM + покой + вторичный
Вторичный, контр.
52,9
Солевой раствор
74,7
15 нед. с HDM
28,8
10,1
66,9
HDM + покой
68,7
HDM + покой + вторичный
18,1
14,6
CD4
Персистирование (n=1011)
Разрешение (n=263)
IL33
Il6
Lcn2
Il1a
Tnf
Cxcr1
Il4
Ccr3
Il3ra
Ccl2
Il7r
Chia1
HDM
HDM + покой
HDM + покой + вторичный
Частота встречаемость живых клеток
Легочные цитокины
H
C
Солевой раствор
HDM + покой

Фиг. 13A


GCM легких
++
HDM
HDM + покой
HDM + покой + вторичный
Втори чный, контр.
Экспрессия IL33 в легких
Относительная экспрессия (относительно B2m, x10-3)
200
150
100
50
0
*** +++
*** +++
*** +++
Солевой раствор
HDM
HDM + покой
HDM + покой + вторичный
Втори чный, контр.
Белок IL33 в легких
[Цитокин] (нг/мг общего белка)
5
4
3
2
1
0
** ++
*
Солевой раствор
HDM
HDM + покой
HDM + покой + вторичный
Втори чный, контр.

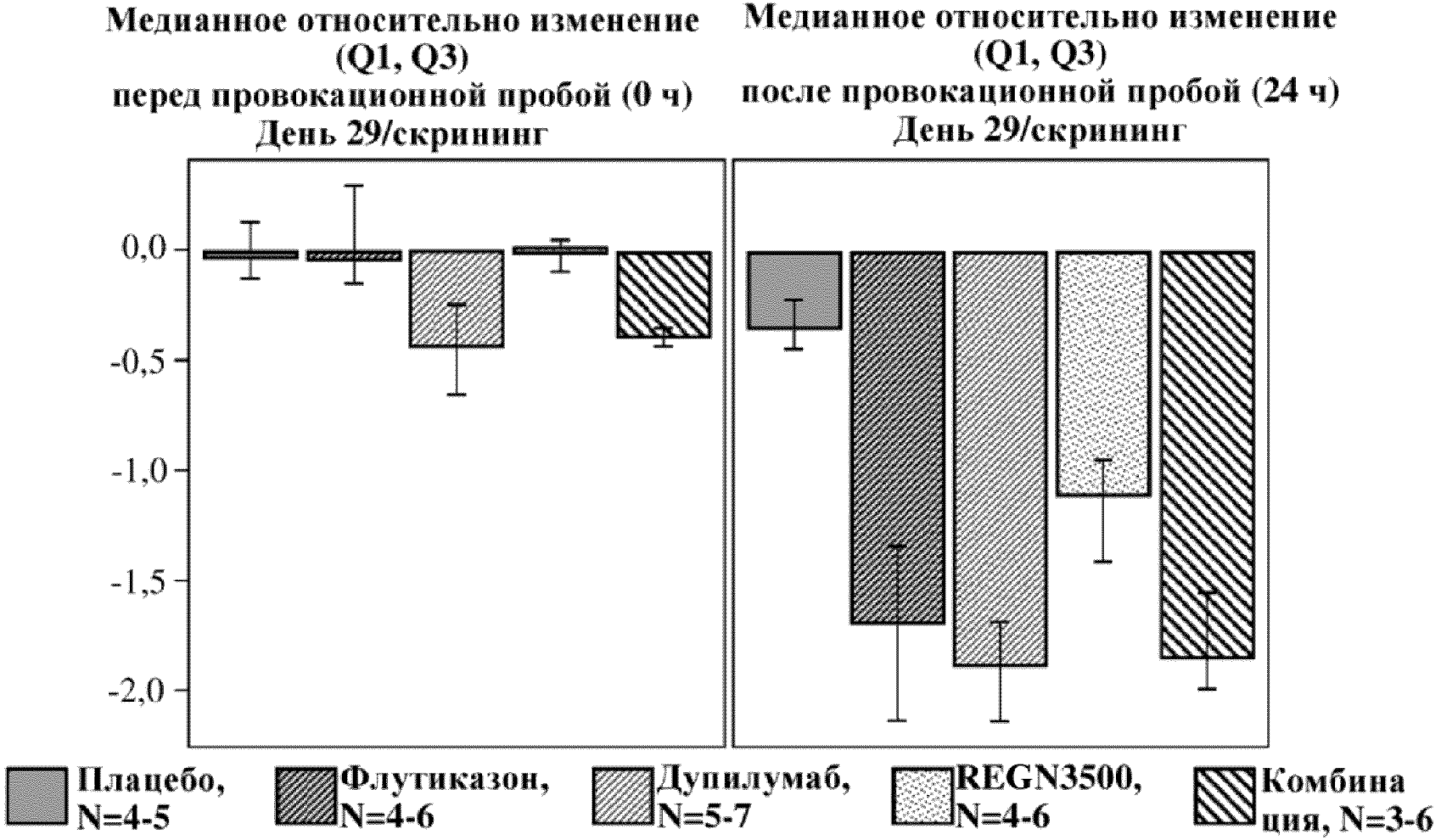
Фиг. 13B

ПОКАЗАТЕЛИ ДЛЯ ГЕННЫХ СИГНАТУР, СВЯЗАННЫХ С ЭОЗИНОФИЛАМИ, МЕЖДУ ГРУППАМИ ЛЕЧЕНИЯ



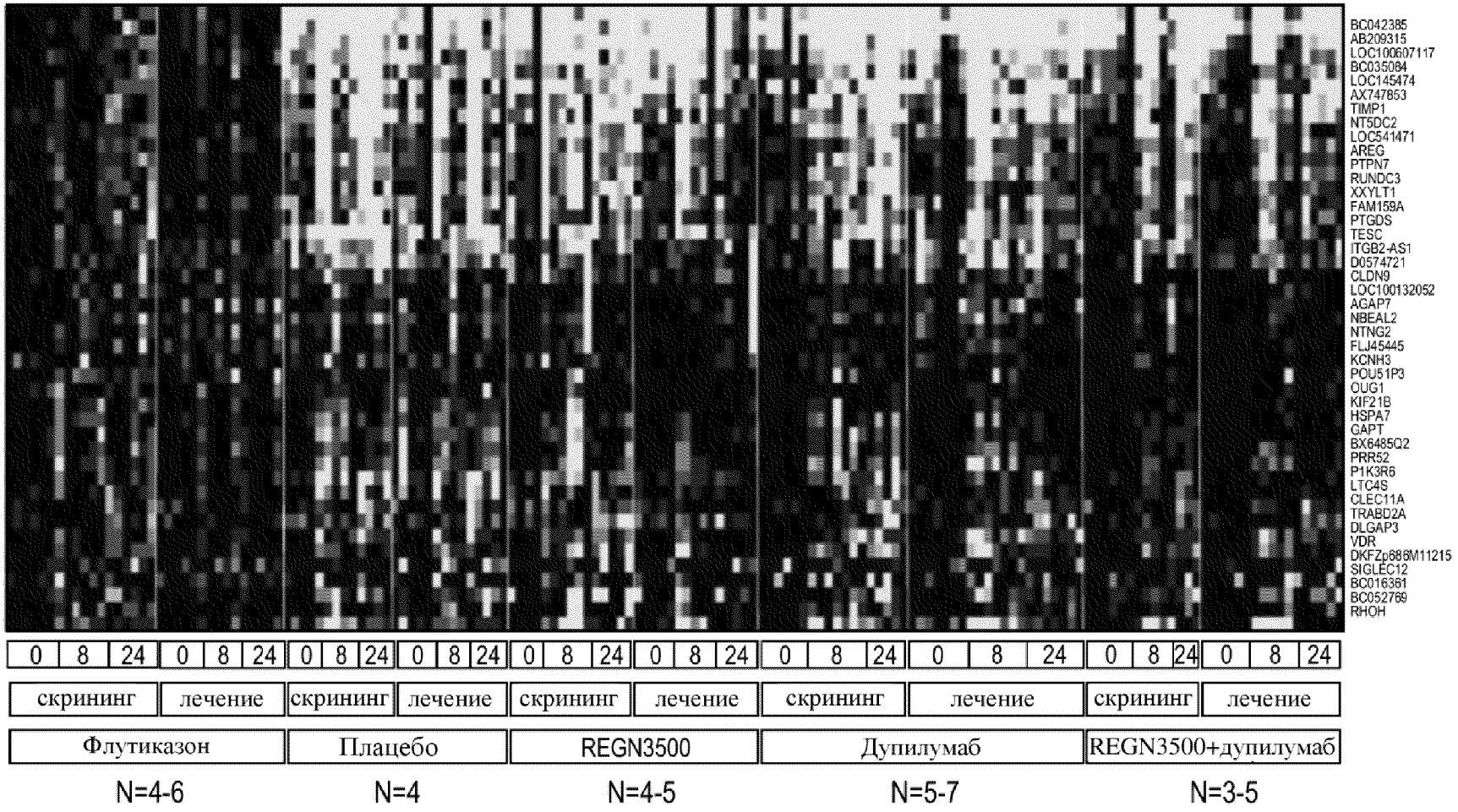
Фиг. 14

ПОКАЗАТЕЛИ ДЛЯ СИГНАТУР, СВЯЗАННЫХ С ВОСПАЛЕНИЕМ 2 ТИПА, МЕЖДУ ГРУППАМИ ЛЕЧЕНИЯ



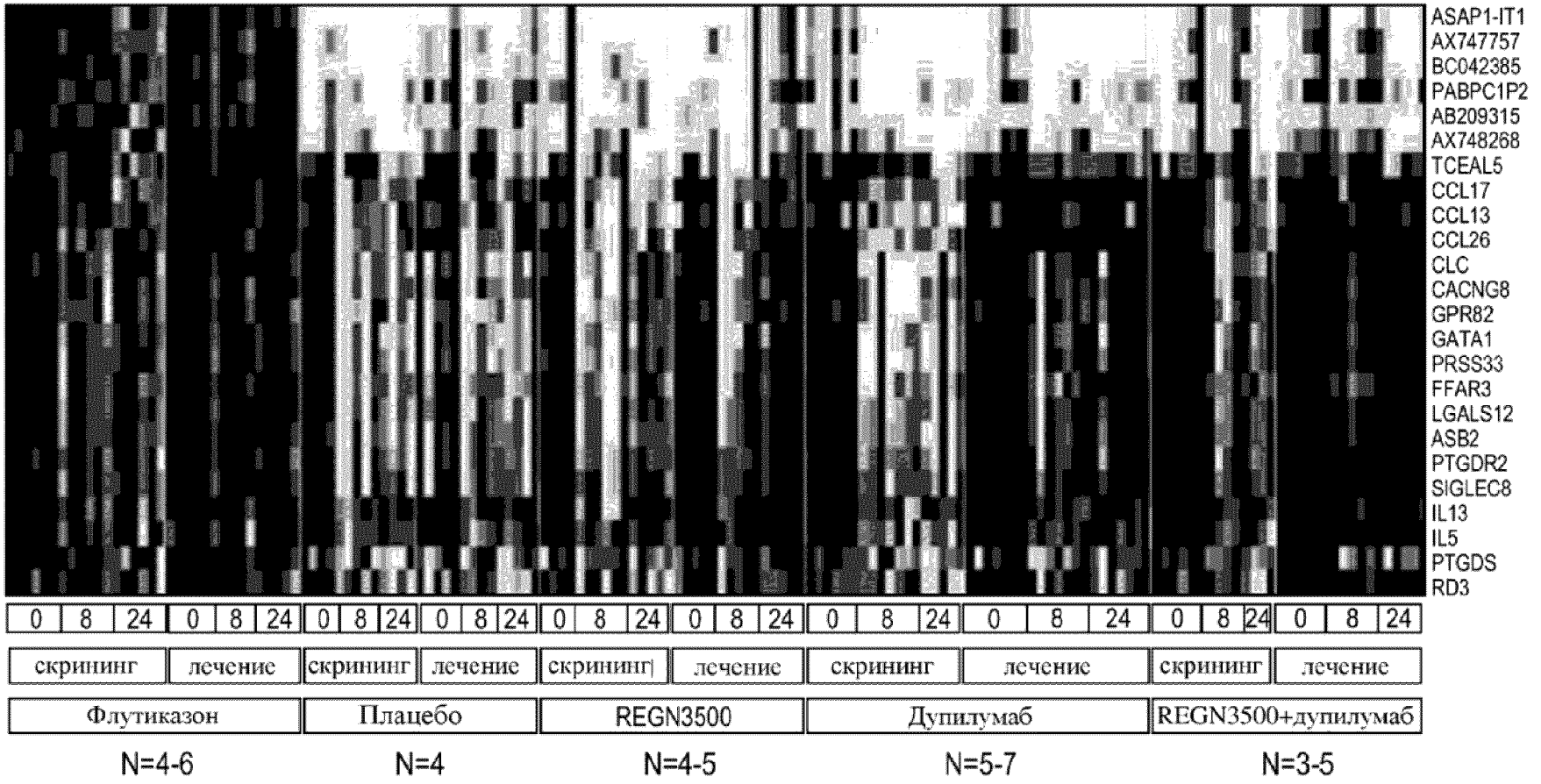
Фиг. 15

Гены, затрагиваемые монотерапией с применением только **антитела к IL33** (43 гена) через 8 и/или 24 ч



Фиг. 16

Ведущие гены, индуцируемые провокационной пробой с аллергеном через 24 часа (FC≥2, FDR или p(скорректированное)≤0,05) и подавляемые **REGN3500** (FC≥2 и p≤0,05)



Фиг. 17